



**Développement d'un procédé
intégrant un emballage sous
atmosphère modifiée et extraits
végétaux pour augmenter la
durée de conservation de
produits marins réfrigérés**

Par
Michel Desbiens

Présenté à
**Ministère de l'Agriculture,
des Pêcheries et
de l'Alimentation**

Rédaction

Michel Desbiens, chargé de projet microbiologie
418 368-6371, poste 1654
Michel.desbien@merinov.ca

Collaborateurs

Luc Leclerc, chargé de projet transformation et procédés alimentaires
418 368-6371, poste 1653
Luc.leclerc@merinov.ca

Marie-Élise Carbonneau, professionnelle de recherche, chimiste
418 368-6371, poste 1652
Marie-elise.carbonneau@merinov.ca

Novembre 2018

© 2018 Merinov Tous droits réservés

Table des matières

Mise en contexte et revue de littérature	4
1. Sélection des inhibiteurs naturels utilisables en fonction de l'impact sur la qualité sensorielle	9
1.1 Détermination de l'activité inhibitrice envers des microorganismes d'altération	9
1.2 Prétests avec crevette et moules	12
1.3 Sélection des inhibiteurs applicables aux filets de poisson.....	21
1.3.1 Émulsification de l'huile essentielle	21
1.3.2 Essais de trempage des filets avec les inhibiteurs	22
1.3.3 Application d'huile essentielle et d'éthanol en phase vapeur	24
2. Effet des traitements sur les indices de fraîcheur.....	28
2.1 Première série d'application d'inhibiteurs.....	29
2.2 Seconde série d'application d'inhibiteurs	33
2.3 Traitements avec le vinaigre de malt et extrait de thé.....	35
3. Détermination des paramètres d'emballage sous atmosphère modifiée	39
4. Mise à l'essai du procédé combinant MAP et inhibiteur	44
5. Discussion et conclusion	61
6. Références.....	62
7. Remerciements.....	65
Annexe 1	66
Annexe 2. Évaluation sensorielle des filets de turbot conservés sous MAP dans différents mélanges gazeux.....	68
Annexe 3. Équipement d'emballage sous atmosphère modifiée.....	72
Annexe 4	74
Annexe 5	75
Annexe 6. Observations sensorielles sur le turbot emballé avec air et sous atmosphère modifiée avant cuisson lors de l'essai final.....	76

Liste des figures

Figure 1. <i>Time-kill</i> utilisant les inhibiteurs Teawell 50 (a, c) et TP85 (b, d) contre <i>B. thermosphacta</i> et <i>P. fragi</i>	12
Figure 2. pH des solutions d'inhibiteurs et des moules traitées aux jours 1 et 8.	19
Figure 3. Couleur des moules après immersion.	19
Figure 4. Comptes psychrotrophes de la chair des moules cuites en fonction des inhibiteurs.	20
Figure 5. Évolution des indices biochimiques d'altération du turbot après traitements T4, V4 et F10.	31
Figure 6. Comparatifs entre les traitements aux jours 0 et 6.	33
Figure 7. Composition des gaz pendant l'entreposage.....	42
Figure 8. Perte de poids des filets de turbot sous MAP pendant l'entreposage à 1-2 °C.....	43
Figure 9. Évolution de la composition des gaz pendant l'entreposage lors de l'essai initial sur le turbot.	48
Figure 10. Cotes d'appréciation sensorielle des filets de turbot après cuisson.	53
Figure 11. Évolution des bactéries psychrotrophes dans le turbot avec air et en MAP.	55
Figure 12. Évolution des bactéries H ₂ S ⁺ dans le turbot avec air et en MAP.	56
Figure 13. Évolution des bactéries lactiques dans le turbot avec air et en MAP.	57
Figure 14. Mesures d'ABVT dans les filets pendant l'entreposage.	59
Figure 15. Mesures de TMA dans les filets pendant l'entreposage.....	59
Figure 16. Mesures de pH dans les filets pendant l'entreposage.....	60

Liste des photos

Photo 1. Effets des traitements sur la couleur.	17
Photo 2. Effets des traitements sur la couleur.	17
Photo 3. Filet cru traité avec vinaigre de malt à 5, 7 et 8 %.	24
Photo 4. Filet traité au vinaigre de malt 7 % après cuisson.	24
Photo 5. Plie après cuisson : a) phase vapeur origan/éthanol, b) contrôle, c) extrait de thé, d) vinaigre tamponné, e) immersion en émulsion d'huile d'origan.	27
Photo 6. Turbot avant cuisson : a) extrait de thé, b) contrôle, c) vinaigre tamponné, d) immersion en émulsion d'huile d'origan.	27
Photo 7. Turbot après cuisson : a) contrôle, b) extrait de thé, c) vinaigre tamponné, d) émulsion d'huile d'origan.	28
Photo 8. Pièces de morue traitées au vinaigre balsamique 4 et 10 %.	35
Photo 9. Morue traitée au vinaigre de malt avant cuisson.	37
Photo 10. Morue traitée au vinaigre de malt après cuisson.	37
Photo 11. Apparence des filets d'omble traités au vinaigre de malt, après cuisson.	38
Photo 12. Affaissement de la pellicule de l'emballage MAP.	47
Photo 13. Filets avec air et sous MAP après 12 jours de conservation.	49
Photo 14. Démarcation de contact de deux filets sous MAP.	49
Photo 15. Filets avec air, sous MAP et extrait de thé après 12 jours d'entreposage et après cuisson.	50

Liste des tableaux

Tableau 1. Références sur les conditions d'emballage MAP.	7
Tableau 2. Concentrations minimales inhibitrices CMI des extraits (ug/ml) (nd =non déterminé).	12
Tableau 3. Solutions de trempage.	14
Tableau 4. pH des crevettes aux jours 0 et 5.	16
Tableau 5. Indices de fraîcheur après 7 jours à 2-4 °C du turbot traité avec extrait de thé vert, vinaigre tamponné, et exposition à la phase vapeur (lettres minuscules différentes indiquent une différence significative entre les traitements à $p < 0,05$).	30
Tableau 6. Indices de fraîcheur après 6 jours à 2-4 °C de la morue traitée avec extrait de thé vert, vinaigre tamponné et exposition à la phase vapeur (exposants différents dans une même colonne indiquent une différence significative par rapport au contrôle).	32
Tableau 7. Indices de fraîcheur après 3 et 6 jours à 2-4 °C de la morue traitée avec extrait de thé vert, vinaigre tamponné et exposition à la phase vapeur.	35
Tableau 8. Comptes bactériens (omble) à T12 après traitements VM et VMT.	38
Tableau 9. Indices biochimiques (omble) à T12 après traitements VM et VMT.	38
Tableau 10. Proportions des différents gaz pour les essais de mise en MAP.	39
Tableau 11. Paramètres d'opération du mélangeur de gaz.	40
Tableau 12. pH final des filets de turbot lors de l'essai initial de mise en MAP.	42
Tableau 13. Cotation des panélistes.	54
Tableau 14. Comptes bactériens mesurés au cours de l'entreposage réfrigéré (lettres différentes dans les colonnes indiquent une différence significative entre les traitements (ANOVA, $p < 0.05$)).	55
Tableau 15. Indices biochimiques mesurés au cours de l'entreposage réfrigéré (lettres différentes dans les colonnes indiquent une différence significative entre les traitements (ANOVA, $p < 0.05$)).	58
Tableau 16. Mesures de CO ₂ et de O ₂ dans les barquettes congelées et réfrigérées.	61

Mise en contexte et revue de littérature

Les produits marins constituent des aliments fragiles dont la durée de conservation à l'état réfrigéré est courte. Par conséquent, les producteurs se résignent à mettre en marché une grande partie de leurs productions à l'état congelé. Le procédé de congélation influence négativement leur qualité sensorielle; la texture est particulièrement affectée par l'exsudation générée par la cristallisation de l'eau et les bris cellulaires, et la saveur par l'oxydation des lipides. La demande pour des produits frais amène les producteurs à tenter la mise en marché de produits non congelés, dont la conservation est limitée à quelques jours compte tenu des délais de transport et de distribution dus à l'éloignement des usines de transformation. La rentabilité est difficile à atteindre.

Il existe des procédés permettant d'allonger la durée de conservation des aliments, mais certains ne sont pas applicables aux produits marins. Par exemple, l'emballage sous vide ou sous atmosphère modifiée est largement utilisé par l'industrie des viandes, mais demeure interdit pour la vente à l'état réfrigéré des produits de la mer prêts-à-consommer en raison des risques de développement de *Clostridium botulinum* non protéolytiques en mesure de proliférer dès 3 °C; l'ajout de nitrites pour limiter le développement de *Clostridium* est également proscrit dans les produits marins en raison du risque accru de formation de nitrosamines cancérigènes. Le recours à des agents de conservation traditionnels représente une option valable pour augmenter la durée de conservation, comme c'est le cas par exemple des crevettes nordiques « brined » mises sur le marché en Scandinavie, auxquelles sont ajoutés des sorbates, benzoates et autres acides organiques. Les entreprises sont souvent hésitantes à ajouter de tels agents dans les produits et craignent la réaction des consommateurs de plus en plus sensibles à la terminologie de la liste d'ingrédients figurant sur les étiquettes.

Inhibiteurs naturels

On voit apparaître graduellement sur le marché des aliments auxquels sont ajoutées des substances « naturelles » permettant de contrôler l'altération due aux microorganismes et aux processus biochimiques enzymatiques et oxydatifs. Des extraits végétaux et des huiles essentielles végétales sont maintenant disponibles pour des fins alimentaires, et plusieurs sont considérés GRAS (*Generally Recognized As Safe*) par le USFDA, bien que leur utilisation dans les différentes catégories d'aliments doit être homologuée au cas par cas. Certains des inhibiteurs « naturels » sont d'origine animale, tels que le lysozyme, la lactoferrine, la protamine. Des gens de l'industrie des pêches ont manifesté des réticences face à l'emploi de substances animales en raison du risque de transmission du prion de l'encéphalite spongiforme bovine. Du côté des inhibiteurs d'origine végétale les plus souvent mentionnés dans la littérature, on retrouve d'une part les extraits riches en polyphénols, tels que les extraits de thé vert, de pépins de raisins, de canneberge, de pamplemousse. Ces extraits sont plus ou moins bruts, et résultent de procédés d'extraction à base d'eau ou de solvants. D'autre part, se trouvent les substances actives issues de fruits, d'herbes et d'épices telles que saponines, eugénol, carvacrol, thymol, terpènes, ainsi que leurs précurseurs, qui en constituent le principe actif dont la production implique davantage d'étapes de purification. Ces inhibiteurs sont employés pour contrôler la croissance de pathogènes dans les aliments, mais aussi pour limiter les processus métaboliques des microflore d'altération et l'oxydation des lipides.

Il y a maintenant un intérêt technologique croissant envers l'utilisation des antimicrobiens naturels en vue d'améliorer la conservation des aliments, dont les produits de la mer. On recense plusieurs travaux portant sur la conservation de poissons notamment à l'aide d'extrait de thé vert (Li *et al.*, 2012; Nirmal *et al.*, 2011; Banon *et al.*, 2007; Xi *et al.*, 2012; Fan *et al.*, 2008). La forte teneur en polyphénols, particulièrement en flavonoïdes, est à la base des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes de thé vert. Les flavonoïdes les plus actifs sont le gallate d'épigallocatechine (EGCG, l'isomère (-)-*épigallocatechine-3-gallate*), et dans une moindre mesure d'autres isomères de catéchines; ces polyphénols constituent environ 10 % du poids sec du thé vert, et une forte proportion dans les extraits de raisin (Friedman, 2007; Peterson *et al.*, 2005; Ananingsih *et al.*, 2013; Hamilton-Miller, 1995; Baydar *et al.*, 2004). Les thés non fermentés contiennent plus de catéchines que le thé fermenté comme le thé noir, car la fermentation oxyde et condense les catéchines (monomères) en dimères moins actifs (Almajano *et al.*, 2008).

D'autres sources de polyphénols font aussi l'objet de recherches appliquées à la conservation des aliments incluant les poissons, dont les extraits de raisin (Ahn *et al.*, 2004; Brannan, 2009) et d'agrumes comme le pamplemousse (Del Nobile *et al.*, 2009; Corbo *et al.*, 2009).

Les huiles essentielles de romarin, d'origan, de cannelle sont également utilisées aux mêmes fins, seules ou en combinaison (Li *et al.*, 2012; Corbo *et al.*, 2009). Toutefois, l'incorporation des huiles essentielles dans les aliments se révèle délicate, car leur impact sensoriel est important et leur affinité pour la phase lipidique peut réduire leur efficacité dans les produits à teneur élevée en gras, comme dans le cas du saumon (Mejlholm & Dalgaard, 2002).

Les données publiées ne convergent cependant pas toutes en ce qui concerne l'efficacité des extraits de thé et autres extraits végétaux. Kim *et al.* (2004) n'ont pas observé d'inhibition de la microflore totale, de *Listeria* et de *Staphylococcus* inoculés dans du bœuf haché contenant 0,1 % d'infusion de thé à 10 %, malgré qu'ils aient mesuré des taux d'inhibition importants en culture dans du BHI formulé avec cette infusion. Ils concluent que la concentration d'extrait de thé, limitée pour éviter d'altérer le goût de l'aliment, était trop faible pour générer une inhibition, et que la forte teneur en protéines et en lipides de l'aliment modèle a entraîné une perte d'activité des composants du thé. Appliqué dans de la viande hachée contenant des sulfites, de l'extrait de pépin de raisin (300 ppm) ou de thé vert (300 ppm) n'ont eu qu'un effet très limité sur la microflore aérobique, mais ont permis d'améliorer les indices sensoriels d'altération et d'augmenter la durée de conservation du produit (Banon *et al.*, 2007).

Un des problèmes de ces substances est que le dosage permettant d'obtenir une activité utile dans les aliments excède souvent la quantité acceptable sur le plan de l'impact sensoriel. Une façon d'atténuer ce problème est de sélectionner des combinaisons d'inhibiteurs fonctionnant par synergie à des concentrations plus faibles, suivant le principe des barrières microbiologiques multiples (*hurdles*) (Leistner & Gorris, 1995). De fait, de nombreux travaux publiés portent sur l'utilisation combinée de plusieurs inhibiteurs, souvent en condition d'atmosphère modifiée.

Une autre limitation des inhibiteurs, « naturels » ou non, est leur instabilité dans une matrice alimentaire. L'interaction des molécules actives avec les lipides et les protéines peut entraîner leur inactivation partielle, parfois presque totale (Perumalla & Hettiarachchy, 2011).

L'utilisation de certaines substances dites « naturelles », par opposition aux agents de conservation chimiques usuels, pourrait constituer une option intéressante pour allonger la durée de conservation des produits marins à l'état réfrigéré. Nous avons donc entrepris une série d'essais exploratoires à petite échelle pour estimer le potentiel de quelques-unes de ces substances.

Emballage sous atmosphère modifiée

D'autre part, l'emballage sous atmosphère modifiée (Modified Atmosphere Packaging, MAP) est couramment utilisé par l'industrie alimentaire. Il ne s'agit pas d'une technologie récente, elle est utilisée depuis longtemps dans les viandes et les volailles en gros volumes, dans les présentoirs réfrigérés des commerces de détail, et certains pays autorisent le MAP pour la vente de produits marins réfrigérés. Au Canada le recours au MAP avec les produits marins a longtemps été écarté à cause du risque potentiel de botulisme. Les services d'inspection laissent maintenant une certaine latitude à la mise en marché de produits marins réfrigérés sous MAP selon certaines conditions parmi lesquelles il ne doit pas s'agir de prêts-à-consommer.

D'excellentes publications sont disponibles sur les performances du MAP dans les produits marins (Alfaro *et al.*, 2013; Menosa-Menabrito & Regenstein, 1990; Farber, 1991; Farber & Dodds, 1995; Sivertsvik *et al.*, 2002; NACMCF, 1992). Plus spécifiquement, certains travaux ont été publiés sur l'association entre MAP et inhibiteurs naturels. Par exemple, Giatrakou *et al.* (2008) ont évalué que de l'espadon traité en surface avec de l'huile essentielle de romarin ou en MAP, ou avec la combinaison des deux, a efficacement inhibé la microflore et conduit à une augmentation de la durée de conservation de 4, 7 et 8 jours respectivement. Des résultats analogues sur la même espèce sous MAP ont été obtenus par Kykkidou *et al.* (2009) avec de l'huile de thym, faisant augmenter la durée de conservation de 7-8 jours

par rapport au MAP et à l'huile utilisée seule, grâce à l'inhibition de la microflore productrice de H₂S et des *Pseudomonas*. Mejlholm & Dalgaard (2002) ont observé que de l'huile essentielle d'origan à 0,05 % appliquée en surface de filets de morue gardés sous MAP a réduit la croissance de *Photobacterium phosphoreum* (un microorganisme fortement impliqué dans le processus d'altération du poisson). L'augmentation de la durée de conservation s'est avérée importante, passant de 11-12 jours en MAP seulement, à 21-26 jours en MAP avec huile d'origan. L'incorporation d'extraits naturels parmi lesquels des extraits de citron, de romarin, de thé vert et du thymol, a permis d'allonger significativement la conservation de burgers de morue sous MAP (100 % CO₂), sans en affecter négativement les propriétés sensorielles (Corbo *et al.*, 2009). Par ajouts à des burgers de maquereau conservés en MAP, Del Nobile *et al.* (2009) ont testé avec succès des combinaisons d'extrait de pamplemousse (100 ppm), de citron (120 ppm) et de thymol (110 ppm); ils ont mesuré l'acceptabilité microbiologique jusqu'à 28 jours à 4 °C, alors que l'acceptabilité sensorielle atteignait à 22-23 jours.

L'ajout de polyphénols acides à du thon en combinaison avec le MAP (60 % CO₂, 35 % N₂, 5 % O₂) conduit à une conservation prolongée jusqu'à 12 jours à 4 °C (Thiansilakul *et al.*, 2013). Par trempage de crevette tropicale entière crue dans une solution 0,1 %, Nirmal & Benjakul (2011) concluent que de l'extrait de thé vert issu de l'infusion de feuilles en poudre retarde significativement la croissance des indicateurs microbiens par rapport à la crevette en MAP sans cet additif. Également, l'augmentation de la valeur des indices biochimiques (ABVT, pH résultant de la dégradation des protéines, oxydation) s'est révélée plus faible grâce à l'extrait de thé.

Quelques paramètres sont à définir dans le cadre des essais du projet :

Composition des gaz

Trois gaz sont utilisés dans les emballages MAP : un mélange O₂/CO₂ sert d'agent actif et l'azote a un rôle de remplissage. Les meilleurs résultats, du moins pour les poissons maigres, sont généralement obtenus avec un ratio de gaz O₂/CO₂ de l'ordre de 50-50 %. Au-delà de 60 % de CO₂, les emballages ont tendance à s'effondrer, et l'exsudation est plus marquée. La présence d'une concentration minimale de O₂ sous MAP a comme avantage de limiter l'exsudation, et d'inhiber partiellement les *Shewanella* en MAP; un taux de O₂ d'au moins 10 % prévient la production de triméthylamine (Soccol *et al.*, 2005).

Pour les poissons gras, une forte proportion de O₂ est moins recommandée en raison du risque d'oxydation des lipides. Le UK Seafish Authority (1985) suggère 30 % O₂/40 % CO₂/30 % N₂ pour les poissons maigres, et de 60 % CO₂/40 % N₂ pour les poissons gras, plus sensibles à l'oxydation. Un taux de CO₂ de 40 % convient à la plupart des poissons blancs, allant jusqu'à 60 % CO₂ avec les poissons gras, car ils ont moins tendance à perdre de l'eau. Pour des poissons à chair colorée, une décoloration peut être perceptible avec des taux de CO₂ élevés; il est alors préférable d'augmenter plutôt le O₂ (p. ex. saumon).

Dalgaard *et al.* (1993) observent une augmentation d'une date limite de consommation (DLC) de 7 jours dans la morue avec un CO₂/N₂ à 48/52 %, alors que Sivertsvik (2007) et Lopez-Caballero (2001) établissent que le ratio idéal pour la morue en *prérigor* gardée à 2 °C est de 60-63 % O₂/40-37 % CO₂. Boskou & Debevere (2000) notent que la morue en MAP à 50 % CO₂ 43 % O₂ est rejetée après 4 jours, et que la conservation aurait été meilleure à 60 % CO₂. Il semble donc que le poisson maigre se garde mieux avec une atmosphère à plus forte teneur en O₂, entre 40 et 65 %. Randell *et al.* (1999) n'observent pas d'effet inhibiteur du MAP avec les espèces grasses (truite, saumon, hareng) avec des ratios O₂/CO₂/N₂ de 32/35/32, 65/35/0 et 0/40/60, mais Fernandez *et al.* (2009) obtiennent de très bons résultats sur du saumon pendant 14 jours avec 60, 75 et 90 % CO₂.

Ratio volumique gaz/produit

Le ratio gaz/produit est généralement de 1 :1 à 3 :1 , le plus souvent 2 :1 pour éviter le collapsus. Un ratio plus faible (1,6 :1) est utilisé par Hansen (2016), mais est compensé par un sachet émetteur de CO₂.

Pellicules des barquettes

Les barquettes rigides résistent mieux au collapsus engendré par la dissolution du CO₂ dans la chair (Stammen *et al.*, 1990) et seront utilisées lors des essais. La pellicule doit être imperméable aux gaz pour éviter une diffusion vers l'extérieur. Une grande variété de membranes est disponible pour cet usage (tableau 1).

Température de conservation

Le UK Seafish Authority estime que la durée de conservation du poisson sous emballage MAP maintenu à 2 °C n'est que de 0,7 fois celle à 0 °C. Sivertsvik *et al.* (2002) établissent que la température de conservation est cruciale pour l'efficacité du MAP; à 5 °C et 10 °C il n'y a pas de bénéfice en termes de conservation, alors qu'à 0 °C celle-ci est allongée de 2-4 jours. Pour cette raison, certaines étapes du projet auraient avantage à être réalisées à 1-2 °C plutôt qu'à la température de 2-4 °C beaucoup plus courante en entreprises. Toutefois, pour s'approcher des conditions réelles, l'essai final devrait être réalisé à 2-4 °C.

Prétrempage en saumure

Plusieurs études convergent sur l'effet bénéfique d'un prétrempage des filets de poisson dans une saumure faible avant la mise en MAP afin de limiter les pertes d'eau. En effet, le CO₂ dissout dans le filet entraîne une baisse de pH altérant la capacité de rétention d'eau des protéines, se traduisant par une exsudation. Sivertsvik *et al.* (2002) et Lauzon *et al.* (2010) établissent que celle-ci peut être limitée en trempant les filets dans une saumure légère avant l'emballage MAP. Pastoriza *et al.* (1998) obtiennent avec le merlu un allongement de 2 jours à 2 °C grâce à la mise en MAP, et de 8 jours si les filets ont été trempés 5 minutes dans une saumure NaCl à 5%. Les données montrent que l'exsudation causée par la dissolution du CO₂ est en partie compensée par ce saumurage léger. Goulas & Kontominas (2007) immergent des filets de dorade dans une saumure 10 % à 8 °C pendant une heure avant la mise en MAP, mais les prétests effectués dans ce projet montrent que l'effet sur le goût salé dans ces conditions est trop marqué. L'immersion de filets de turbot (appellation courante du flétan du Groenland) et de plie dans une saumure 3 % pendant 5 minutes n'a pas du tout altéré la saveur typique du produit. Le tableau 1 recense plusieurs références concernant l'emballage sous atmosphère modifiée appliqué aux poissons.

Tableau 1. Références sur les conditions d'emballage MAP.

Produits	État cru/cuit	O ₂ /CO ₂ /N ₂	Pellicule	Ratio G:P	Références
Maquereau	Cuit	5/95/0	High-barrier Nylon/Polyethylene bags (90 µm)		Speranza <i>et al.</i> , 2009
Merlu	Cuit	5/95/0	id		Speranza <i>et al.</i> , 2009
Grondin	Cuit	5/95/0	id		Speranza <i>et al.</i> , 2009
Bar	Cru	0/60/40 mieux; 0/50/50 et 0/40/60	Polyethylene/polyami de laminate film	3 :1	Provincial <i>et al.</i> , 2010
Dorade	Cru	30/40/30	Low density Polyethylene/ Polyamide/Low density Polyethylene	2 : 1	Goulas <i>et al.</i> , 2007

Produits	État cru/cuit	O ₂ /CO ₂ /N ₂	Pellicule	Ratio G:P	Références
Tilapia	Cru		EVOH (copolymer of ethylene of vinyl alcohol film)	2 : 1	Soccol <i>et al.</i> , 2005
Morue	Cru	0/75/25			Villemure <i>et al.</i> , 1986
Tilapia	Cru	0/75/25			Soccol <i>et al.</i> , 2005
Sole (<i>Solea</i>)	Cru	60/40/0			Soccol <i>et al.</i> , 2005
Truite, Hareng, Saumon		32/35/32; 65/35/0; 0/40/60			Soccol <i>et al.</i> , 2005
Crevette (Pandalus)		0/0/100			Soccol <i>et al.</i> , 2005
Merlu Entier	Cru	40/60/0			Soccol <i>et al.</i> , 2005
Morue	Cru	30-40/60-70/0			Soccol <i>et al.</i> , 2005
Morue	Cru	40/60/0	en culture		Debevere et Boskou, 1996
Morue	Cru	45/50/5	PET-LDPE et PET-PE-EVOH	2 : 1	Debevere et Boskou, 1996
Morue	Cru	0/40/60 et 20/40/40		2 : 1	Guldager <i>et al.</i> , 1998
Poissons Plats		80% CO ₂			Siverstvik, 2002
Morue	Cru	10/60/30			Lauzon <i>et al.</i> , 2010
Morue	Cru	0/2/98 et 0/3/97 et 0/29/71 et 0/48/52 et 0/97/3	Riloten 40/70X plastic laminate	2 : 1	Dalgaard <i>et al.</i> , 1993
Morue prérigor	Cru	63/37/0	High-density polyethylene, sur barquette semi-rigide, puis scellé avec laminage PE et polyamide (??)	2 : 1	Sivertsvik, 2007
Saumon	Cru	0/60/40 et 0/40/60	High-density polyethylene (« lidding film: 15 my PW75 my PA »), sur barquette semi-rigide de 610 ml	1 : 1	Randell <i>et al.</i> , 1998
Morue	Cru	40 air/60/0	PET-Nylon		Woyewoda <i>et al.</i> , 1984
Morue	Cru	0/75/25		1 : 6	Reddy <i>et al.</i> , 1999
Merlu	Cru	5/50/45		2 : 1	Pastoriza <i>et al.</i> , 1998
Morue	Cru	0/60/40	Barquettes 490 ml; avec pad ou pad émetteur CO ₂	1,6 : 1	Hansen <i>et al.</i> , 2016
Saumon	Cru	0/60/40	NEN 40 HOB/ LLPDE 75	2 : 1	Emborg <i>et al.</i> , 2002
Truite	Cru	5/45/50	Sacs LDPE/PA/LDPE		Pyrgotou <i>et al.</i> , 2010

Objectifs du projet

Le projet consiste en une exploration de l'impact de l'ajout d'extraits végétaux sélectionnés et de l'emballage sous atmosphère modifiée sur la durée de conservation de poisson frais conservé à l'état réfrigéré.

Déroulement du projet

La partie 1 consiste à appliquer des inhibiteurs naturels à des filets de poisson en vue de déterminer si l'application de ces substances est compatible avec les caractéristiques organoleptiques intrinsèques du poisson. La partie 2 vise à mesurer l'effet des inhibiteurs retenus sur la microflore globale et les principaux indices de fraîcheur du poisson. Parallèlement, dans la partie 3 les paramètres du procédé d'emballage de filets de poisson sous MAP seront définis pour conduire l'expérimentation. Enfin, la partie 4 permettra de mesurer l'allongement de la durée de conservation de filets de poisson sous réfrigération en appliquant un emballage MAP avec et sans l'ajout de l'inhibiteur naturel sélectionné dans la partie 2.

Étant donné le côté exploratoire du projet, et du fait de la disponibilité réduite et plutôt imprévisible des produits marins frais en fonction des périodes de pêche, le déroulement des différents essais a été fait de manière discontinue et a forcé à recourir à plusieurs reprises à des espèces alternatives.

1. Sélection des inhibiteurs naturels utilisables en fonction de l'impact sur la qualité sensorielle

1.1 Détermination de l'activité inhibitrice envers des microorganismes d'altération

Cette première étape visait à établir si les extraits naturels qui feront l'objet des essais sur le poisson démontrent *in vitro* une activité antimicrobienne minimale envers deux microorganismes indicateurs faisant partie de la microflore des produits marins. Les inhibiteurs ont été sélectionnés parmi les substances suivantes obtenues à titre d'échantillons de fabricants et de distributeurs (leur composition provient des fiches techniques des fabricants). À noter que plusieurs de ces substances ne sont pas mises en marché comme antimicrobiens, mais plutôt en tant qu'antioxydants et arômes naturels.

Les substances testées sont :

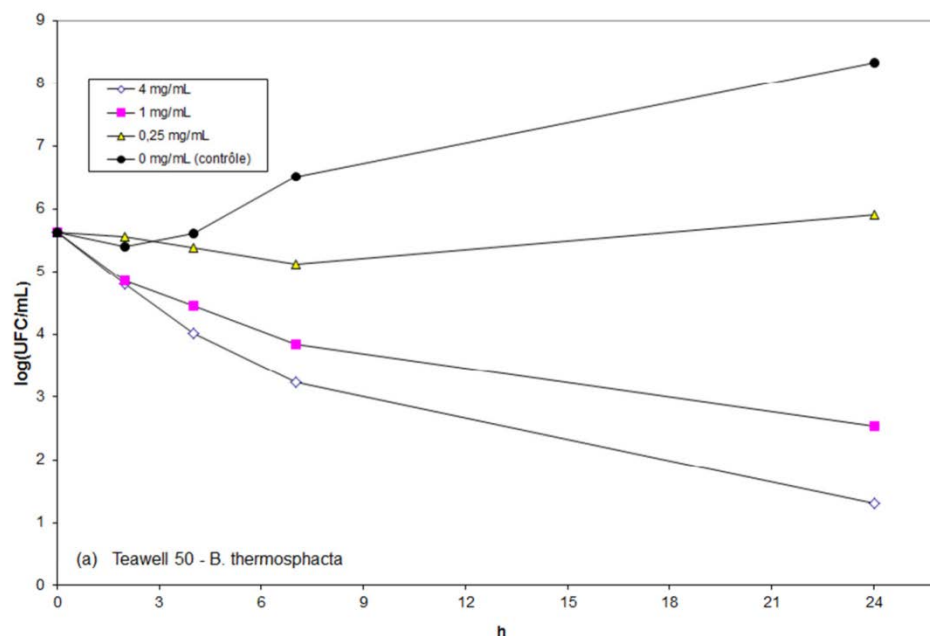
- Teawell 50 (A. Holliday & Co. Inc., Toronto) : extrait de thé vert; teneur de 50 % de gallate d'épigallocatechine (EGCG), 80 % de catéchines totales
- TP85 (A. Holliday & Co. Inc., Toronto) : extrait de thé vert; teneur de 46 % de gallate d'épigallocatechine; 85 % de polyphénols (désigné TP85)
- GT01 (A. Holliday & Co. Inc., Toronto) : extrait de thé vert à teneur de 8 % de gallate d'épigallocatechine ; 25 % de polyphénols
- Oxyphyte Grape seed TC130006 (RFI Ingredients, Blauvelt NY, USA) : extrait de pépins de raisin, à teneur en polyphénols de 90 % (désigné Oxy GSE)
- Oxyphyte GreenTea TC 130003 (RFI Ingredients, Blauvelt NY, USA) : extrait de thé vert; teneur de 40 % de gallate d'épigallocatechine, en catéchines totales de 80 %, et en polyphénols de 90 % (désigné Oxy GTE)
- Oxyphyte Apple Extract TC130007 (RFI Ingredients, Blauvelt NY, USA) : extrait de pomme, à teneur en polyphénols de 75 % (désigné Oxy AE)
- Guardian Tea 20S (Danisco, Scarborough, Ont.) : extrait de thé vert; teneur de 20 % de gallate d'épigallocatechine (désigné Guardian 20S)
- Gravinol-S (Kikkoman BioChemica, Tokyo) : extrait de pépins de raisin, à teneur en proanthocyanidines de 83 % (désigné Gravinol)
- Guardian Rosemary extract #9 (Danisco, Scarborough, Ont.) : huile essentielle de romarin en émulsion (désigné HER)
- Foodguard F440D (Biosecur Lab, Mont St-Hilaire, Qc) : huile essentielle de citron (désignée HEC)
- Kerry 715660 (Kerry Ingredients, Beloit WI, USA) : huile essentielle de citron (désignée HEC-K)

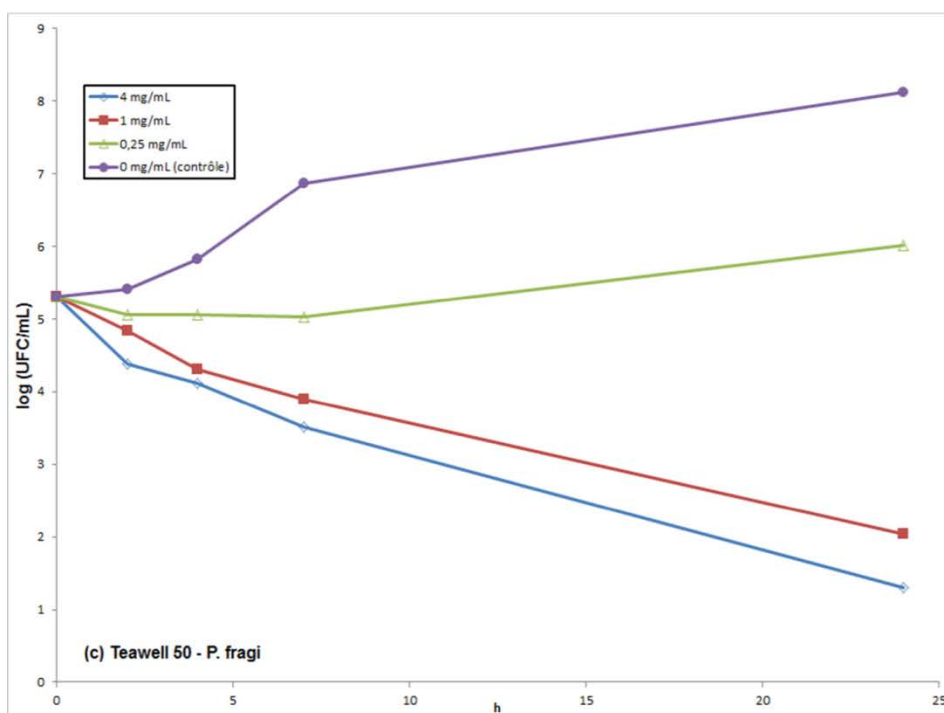
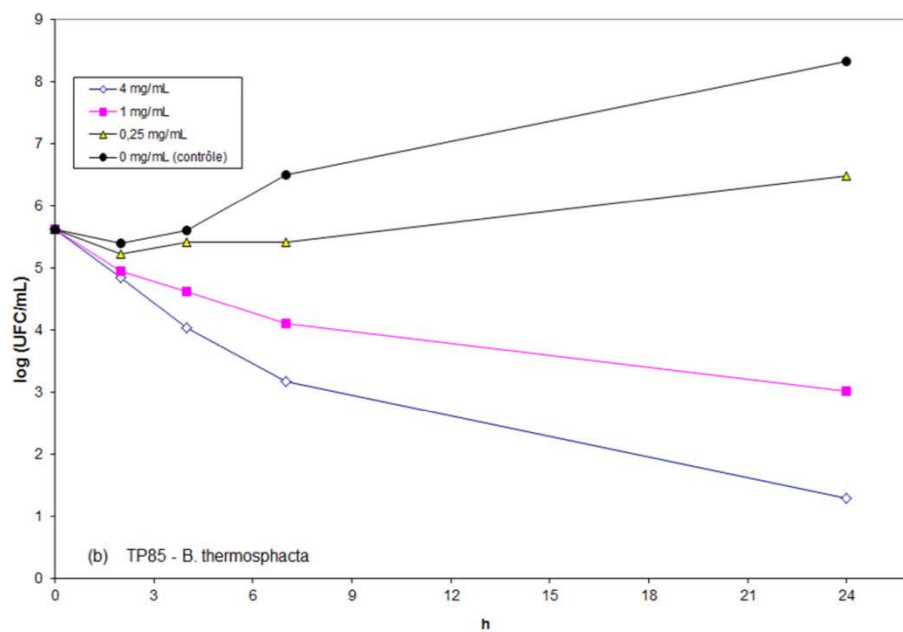
La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée pour les bactéries *Pseudomona fragi* ATCC 27863 et *Brochothrix thermosphacta* ATCC 11509 par une méthode de microdilution (CLSI, 2000). Certains inhibiteurs contenant des polyphénols formaient rapidement un précipité lorsque mis en solution, causant une opacification interférant avec les mesures de densité optique, il a donc fallu recourir à une méthode de dilution sur agar (CLSI, 2000). La méthode dite *time-kill* (Schwalbe *et al.*, 2007) a aussi été utilisée avec deux des extraits de thé vert pour valider l'effet bactéricide détecté.

Résultats

À l'exception de l'huile essentielle de citron Kerry, tous les composés mis à l'essai ont eu un effet antimicrobien contre au moins une des deux bactéries cibles. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont cependant élevées (plus de 1000 ug/ml), particulièrement celles de l'extrait GT01, Guardian Tea 20S, ainsi que les extraits Oxyphyte de pomme (AE) et de pépins de raisin (GSE). Le GTE, le TP85 et le Teawell 50 ont affiché des CMI plus basses (256-512 ug/ml), donc plus inhibitrices. Les huiles essentielles de romarin et de citron se sont révélées un peu plus actives, sauf l'huile de citron Kerry (HEC-K) qui n'a eu aucune activité inhibitrice détectable. L'huile essentielle de citron Foodguard (HEC) a conduit à une CMI de 25 ug/ml contre *Brochothrix thermosphacta* et 400 ug/ml contre *Pseudomonas fragi*, une activité plutôt forte. L'huile essentielle de romarin a montré une activité intéressante contre *B. thermosphacta*, mais pas *P. fragi* (il est documenté que les huiles essentielles sont généralement plus actives contre les bactéries à Gram positif que Gram négatif).

Les résultats de l'essai de *time-kill* (figure 1a à 1d) montrent que les deux extraits ont un effet bactéricide après 24 heures à concentration de 1000 ug/ml. Une diminution de 3 logs en 24 heures de la concentration cellulaire de l'inoculum est en effet le critère déterminant l'action bactéricide (Schwalbe *et al.*, 2007; Motyl *et al.*, 2005; Probst *et al.*, 2011). Cette concentration représente quatre fois la CMI (qui est de 256 ug/ml dans le cas des deux bactéries cibles).





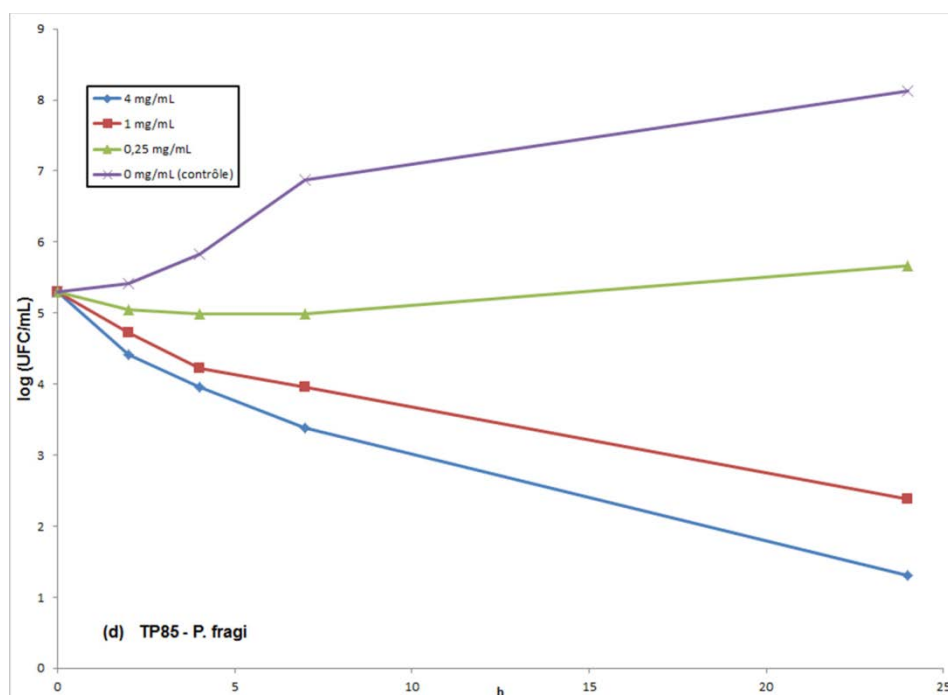


Figure 1. Time-kill utilisant les inhibiteurs Teawell 50 (a, c) et TP85 (b, d) contre *B. thermosphacta* et *P. fragi*.

L'ensemble des concentrations minimales inhibitrices obtenues est présenté au tableau.

Tableau 2. Concentrations minimales inhibitrices CMI des extraits (ug/ml) (nd =non déterminé).

Inhibiteurs	<i>B. thermosphacta</i>	<i>P. fragi</i>	Méthode
TP85	256	256	Dilution agar
GT01	5000	5000	Microdilution
Teawell 50	256	256	Dilution agar
Oxyphyte GSE	1024	1024	Dilution agar
Oxyphyte GTE	512	512	Dilution agar
Oxyphyte AE	1024	>1024	Dilution agar
Guardian Tea 20S	>1024	1024	Dilution agar
Guardian HER	80	5000	Microdilution
Gravinol-S	256	nd	Microdilution
HEC-K	>1600	>1600	Microdilution
HEC	25	400	Microdilution

Les données indiquent que les extraits de thé vert ont une activité antimicrobienne pouvant potentiellement induire une inhibition de bactéries d'altération dans les produits marins. À cette étape, certains inhibiteurs ont été écartés en raison de leur faible activité.

1.2 Prétests avec crevette et moules

Sur la base des tests précédents et sur la littérature scientifique, une première série d'essais a été entreprise sur des produits marins. Comme les travaux ont été amorcés avant le début de la saison de pêche, les poissons visés comme matières premières n'étaient pas encore disponibles. Il a été décidé de démarrer la sélection des inhibiteurs en les appliquant à des produits comme la crevette cuite décortiquée et la chair de moule cuite.

Procédures

Les substances utilisées comme inhibiteurs naturels sont :

- Extrait de thé vert TP85-46 (A. Holliday & Co. Inc., Toronto);
- Extrait de thé vert Oxyphyte greentea TC 130003 (RFI Ingredients, Blauvelt NY, USA);
- Extrait de thé vert Guardian Tea 20S (Danisco, Scarborough, Ont.);
- Infusion de thé vert : préparée au laboratoire à partir de feuilles séchées de thé vert disponibles dans un marché local;
- Extrait de pommes Oxyphyte Apple Extract TC130007 (RFI Ingredients, Blauvelt NY, USA);
- Extrait de pépins de raisin Gravinol-S (Kikkoman biochemica, Tokyo);
- Huile essentielle de romarin Guardian Rosemary Extract #9 (Danisco, Scarborough, Ont.);
- Huile essentielle de citron Foodguard F440D (Biosecur Lab, Mont St-Hilaire, Qc);
- Huile essentielle d'origan (Sigma #W282812);
- Vinaigre tamponné Verdad NY8 (Purac Corbion);
- Vinaigre de malt (Cross & Blackwell).

Crevette

La crevette non congelée et non phosphatée n'étant pas disponible au moment de l'essai, de la crevette phosphatée congelée achetée dans une poissonnerie a été utilisée. Les combinaisons d'inhibiteurs servant aux solutions de trempage ont été préparées avec de l'huile essentielle de romarin, du jus de citron (sans additifs) en bouteille du commerce et une infusion de thé vert. Une concentration de NaCl à 1 % a aussi servi comme contrôle et pour solubiliser les inhibiteurs. Les solutions de départ étaient :

- Infusion de thé vert 3 % :

Les feuilles broyées de thé vert (11 g) ont été ajoutées à 365 ml d'eau et macérées à ébullition douce pendant 10 minutes. L'infusion a été tamisée pour enlever les plus grosses particules, puis filtrée sur papier Whatman GF/C et réfrigérée à l'abri de la lumière.

- Jus de citron à 10 %
50 ml de jus de citron et 5 g de NaCl sont ajoutés à 450 ml d'eau
- Huile essentielle de romarin
Ajoutée directement à la saline sans dilution préalable
- Saline
10 g NaCl par litre d'eau

Les solutions de trempage ont été préparées en combinant les différents inhibiteurs aux concentrations présentées ici :

Tableau 3. Solutions de trempage.

#	Huile de romarin (g)	Infusion thé 3 % (ml)	Jus citron 10 % (ml)	Saline 1 % (ml)
1	1	0	0	50
2	2	0	0	50
3	1	0	50	0
4	2	0	50	0
5	0	0	50	0
6	0	0	25	25
7	0	50	0	0
8	0	25	0	25
9	0	8	0	42
10	0	25	25	0
11	0	8	42	0
12	2	25	0	25
13	2	8	0	42
14	2	25	25	0
15	0	0	0	50

Pour chaque traitement, 40-50 g de crevettes ont été placés dans un b cher en suspension dans une des solutions de trempage, et elles ont été gard es   4  C pendant 30 minutes. Le contenu des b chers a ensuite été égoutté dans une passoire pendant 1 minute. Le pH des crevettes a été mesuré en plaçant directement une électrode en pointe dans la chair. Les crevettes trait es ont été emball es dans des sacs Whirlpak non scellés, puis entrepos es dans la chambre r frig r e   4  C.

Après 5 jours d'entreposage, l'évaluation de l'odeur, du goût et de la couleur des crevettes a été faite par un groupe restreint de trois consommateurs r guli rs de consommer ce produit.

Chair de moule cuite

Les inhibiteurs utilisés étaient le Gravinol et le Oxyphyte Green Tea à une concentration un peu plus  lev e (1,5 %) que celle utilis e dans la crevette, l'infusion de thé vert et l'huile essentielle de romarin dont la teneur est abaiss e   2 % étant donné son odeur très marqu e not e lors de l'essai pr c dent. Le jus de citron sert à abaisser le pH afin d'augmenter le potentiel d'activité des autres inhibiteurs.

Préparation des inhibiteurs

- Infusion de thé vert 3 % (B)
Des feuilles de thé vert (207 g) ont été plac es dans 5,5 L d'eau du robinet à légère ébullition et laiss es   infuser 10 minutes en agitant occasionnellement. L'infusion a été filtr e dans un tamis. Après décantation le liquide est filtré sur un coton à fromage pour enlever les plus grosses particules solides. La concentration est ensuite ajust e à 3 % par ajout de 75 ml d'eau, de 15 g de NaCl et la solution est gard e r frig r e à l'abri de la lumière.

- Contrôle de saline (A)
15 g de NaCl + 750 ml d'eau du robinet bouillie.
- Huile de romarin 2 % (C)
15 g d'huile essentielle de romarin (Danisco Guardian #9) + 750 ml d'eau du robinet bouillie et 15 g de NaCl.
- Solution jus de citron 10 % (D)
75 ml de jus de citron (obtenu de citrons frais pressés) + 675 ml d'eau du robinet bouillie et 15 g de NaCl.
- Infusion de thé 3 % + jus citron 10 % (E)
Prélever 675 ml d'infusion initiale à 3,8%. Ajouter 75 ml de jus de citron et 15 g de NaCl.
- Huile de romarin 2 % + jus citron 10 % (F)
15 g d'huile de romarin à 675 ml d'eau du robinet bouillie + 75 ml de jus de citron + 15 g de NaCl.
- Infusion de thé 3 % + jus citron 10 % + HER (G)
Prélever 675 ml d'infusion initiale à 3,8%. Ajouter 75 ml de jus de citron et 15 g de NaCl, et ajouter 15 g d'huile de romarin.
- Solution Gravinol, Oxyphyte et citron (H)
11,2 g d'Oxyphyte Green Tea + 11,2 g de Gravinol + 675 d'eau bouillie. Ajouter 75 ml de jus de citron.

Des moules fraîches (14 kg) ont été cuites selon le procédé habituellement utilisé au labo de développement. Trois échantillons de 25 g sont mis de côté pour analyses microbiologiques.

Une quantité de 750 ml de chacune des huit solutions a été versée dans un contenant de 2 litres. Dans chacune de ces solutions, 300-320 g de chair de moules a été déposé (ratio chair : liquide de 1 : 2,5). Les moules ont macéré pendant 1 heure au réfrigérateur, en les agitant après 20 et 40 minutes. Après macération, le contenu des récipients a été vidé dans un tamis et égoutté pendant 1 minute. Les moules ont été réparties dans des sacs non scellés en préparation des évaluations et entreposées en chambre réfrigérée. Les évaluations microbiologiques et sensorielles après traitements ont été faites aux jours 1, 4, 6 et 8 (deux sacs d'échantillons pour chaque mesure).

- Analyses microbiologiques : comptes psychrotrophes à 7 °C sur milieu Long & Hammer.
- Évaluations sensorielles :

Les évaluations sont faites par deux personnes participant au projet. À l'ouverture des sacs, une appréciation sur l'odeur était notée, de même que l'apparence, la couleur et toute anomalie détectable. La chair était ensuite goûtée. Des mesures de pH ont été faites aux jours 1 et 8.

Résultats

Crevette

Les mesures de pH initial ont été faites sur les crevettes, sur celles ayant été traitées au jus de citron au jour 0, puis sur toutes les formulations au jour 5.

Tableau 4. pH des crevettes aux jours 0 et 5.

# Traitements	pH jour 0	pH jour 5
15 (contrôle)	7,24	7,96
1		7,67
2		7,87
3	6,5	7,6
4	6,48	7,62
5	6,45	7,58
6	6,84	7,79
7		7,32
8		7,4
9		7,52
10	6,78	7,25
11	6,6	7,31
12		7,78
13		7,88
14	6,73	7,64

La crevette sans traitement (contrôle) s'est altérée sur les cinq jours d'entreposage. La production d'amines a fait augmenter le pH à 7,96, valeur élevée indicatrice d'une dégradation marquée des protéines. Pour tous les traitements, le pH a augmenté sur les cinq jours, sans atteindre celui du contrôle. Le traitement au jus de citron a fait baisser le pH des crevettes au jour 0 à des valeurs de 6,45 à 6,84 selon les formulations, bien cette baisse soit modérée, l'acidité était perceptible au goût. Le pH du traitement à l'infusion de thé vert est demeuré le plus bas après les cinq jours d'entreposage.

Malheureusement, presque tous les traitements ont eu, au jour 0, un effet négatif sur la couleur, au mieux détectable, au pire très marqué (photos 1 et 2). La couleur est particulièrement affectée par l'extrait de thé, même à 0,5 %, le blanc de la crevette devient rapidement un peu beige. Toutefois, la couleur des crevettes traitées seulement au jus de citron n'est pas affectée.

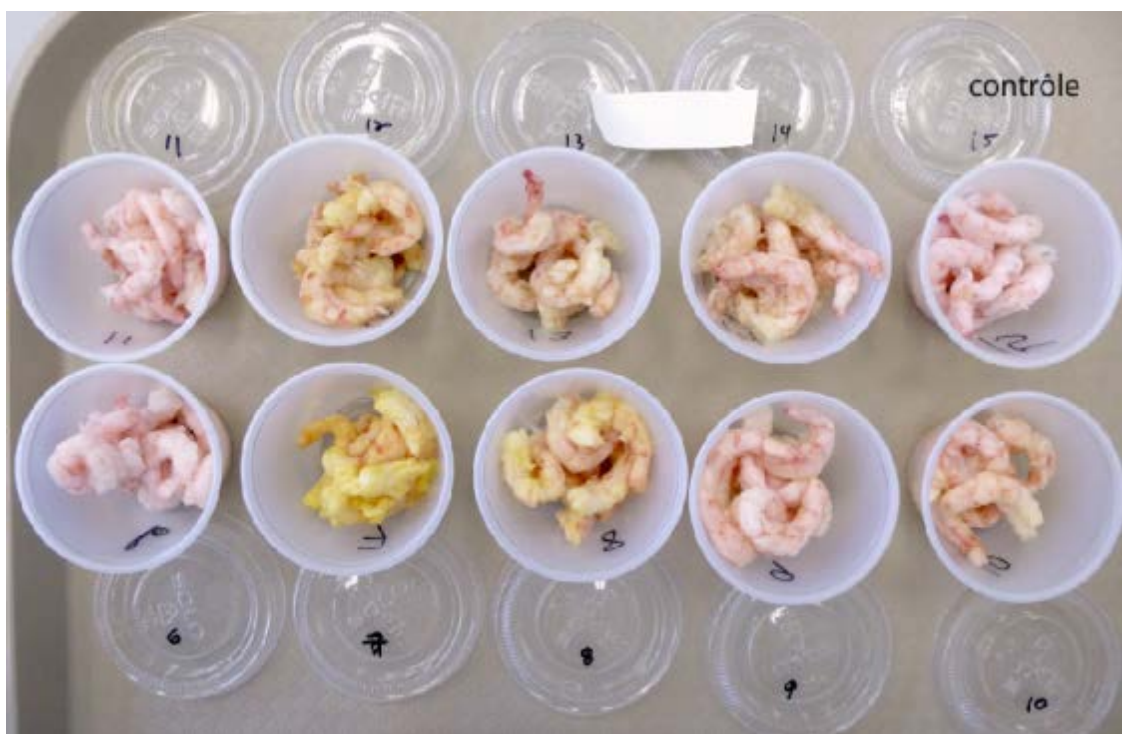


Photo 1. Effets des traitements sur la couleur.

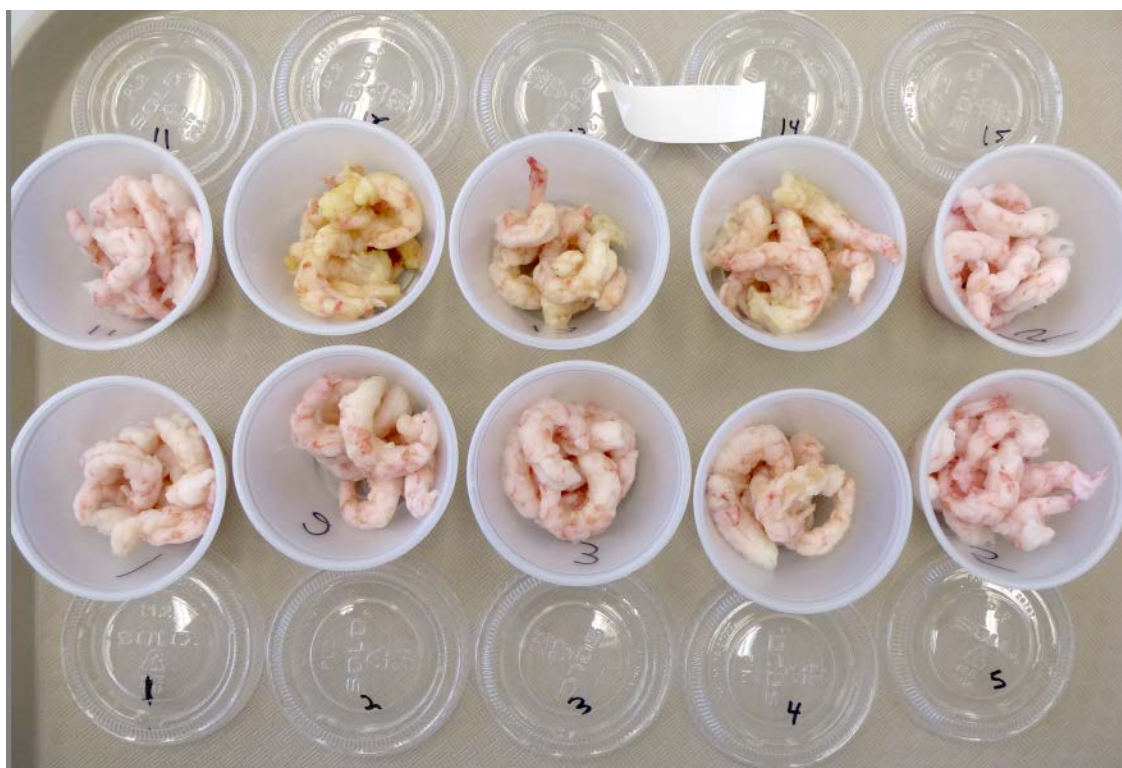


Photo 2. Effets des traitements sur la couleur.

La différence de couleur entre la crevette traitée à l'huile de romarin (traitement 1) et le contrôle (traitement 15) n'est pas très importante, mais visible. Le blanc est légèrement jaune/beige et la chair moins brillante que le contrôle.

Les traitements 7, 8, 10, 12, 13 et 14 induisent une teinte trop marquée pour être acceptables, particulièrement les 7, 8 et 12. Les traitements 9 et 11 contenant l'infusion à 0,5 % modifient légèrement le blanc de la chair et donnent à la crevette un aspect « vieilli », un peu atténué en présence de jus de citron; l'infusion plus concentrée donne une teinte un peu jaune/beige.

L'odeur de l'huile de romarin dans les crevettes traitées est vraiment dominante, même à la plus faible concentration, et ne s'harmonise pas avec celle de la crevette. Cette odeur est atténuée, mais encore perceptible lorsque le jus de citron est ajouté. Il est surprenant de constater que les crevettes ayant été immergées dans le jus de citron ne dégagent pas d'odeur citronnée, l'odeur typique de la crevette demeurant bien présente. L'odeur de l'extrait de thé est détectable sans être agressive. On ne détecte toutefois pas d'odeur de thé ni de citron dans le traitement 11 (infusion 0,5 % et citron 8,4 %). L'huile de romarin quant à elle, domine celle de la crevette dans les formulations 12, 13 et 14, bien que l'odeur soit atténuée par le jus de citron dans la formulation 14.

L'impact des inhibiteurs sur le goût est encore assez marqué dans le cas de certaines formulations. Le traitement au jus de citron confère une légère acidité détectable même à la concentration la plus faible (5 %), mais sans être désagréable, aucun goût de citron n'est perceptible. Tout comme pour l'odeur, le goût de romarin domine lorsqu'appliqué aux crevettes. Dans les traitements combinés, l'association du goût de romarin et de l'acidité du citron n'est pas agréable.

L'infusion de thé à 1,5 % donne un goût astringent, à 0,5 % la saveur typique de thé est plutôt agréable, mais masque celle de la crevette. En combinaison avec le jus de citron, la saveur typique de thé vert est détectable dans les formulations.

Crevette au jour 5 :

L'ensemble des commentaires de l'évaluation au 5^e jour de conservation est résumé à l'annexe 4. En somme, par comparaison avec le contrôle sans inhibiteur, les différents traitements appliqués ont partiellement limité ou masqué, selon les seuls critères sensoriels, l'apparition des indices d'altération dans la crevette réfrigérée. En contrepartie, les changements de couleur, d'odeur et de saveur générés par leur application par immersion se sont révélés trop importants pour être utilisables dans la crevette cuite.

Les résultats montrent que les concentrations utilisées d'extrait de thé et de raisin, et d'huile de citron, n'ont pas d'impact positif sur la conservation de la crevette. Les combinaisons de jus de citron, l'infusion de thé vert et l'huile essentielle de romarin ont quant à elles constitué de meilleures pistes, mais beaucoup de travail devrait être fait pour trouver un mélange satisfaisant d'inhibiteurs permettant d'allonger la conservation sans entraîner d'effets négatifs sur l'intégrité organoleptique de la crevette. Celle-ci n'est pas un aliment qui se prête facilement à l'ajout d'inhibiteurs naturels : sa saveur reste subtile et rapidement dominée par les ingrédients ajoutés, et la teinte de la chair est facilement modifiée par les inhibiteurs d'origine végétale pour la plupart fortement colorés.

Chair de moules cuite

Le pH des solutions contenant 10 % de jus de citron était très bas, entre 2,59 et 3,01. Le pH de la chair de moules est descendu en conséquence, passant de 7,22 à 5,34-5,55. Le pH n'a que très peu varié après huit jours de conservation (figure 2). Quant au pH des moules traitées à l'infusion et à l'huile de romarin, seules ces dernières ont affiché une baisse modérée de pH de 0,6 unité. Le pH de la chair de moules constituant le contrôle a diminué d'une unité au cours des 8 jours d'entreposage. Cette baisse pourrait être liée à la production d'acide lactique de la microflore naturelle.

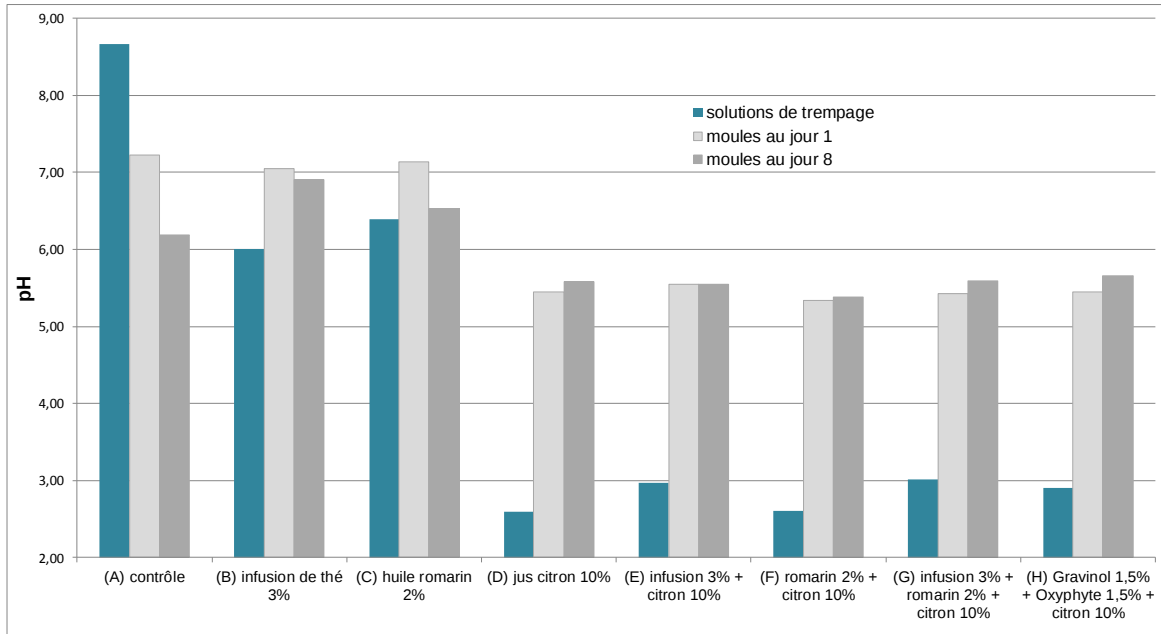


Figure 2. pH des solutions d'inhibiteurs et des moules traitées aux jours 1 et 8.

L'immersion des moules dans les solutions d'inhibiteurs n'a pas eu beaucoup d'impact immédiat sur leur couleur, sauf pour la solution H contenant du Gravinol. Cette dernière est de couleur fortement rouge pourpre (photo 3) et les moules prennent une coloration rougeâtre après l'immersion.



Figure 3. Couleur des moules après immersion.

La solution G, avec combinaison d'inhibiteurs, est très dense et totalement opaque. Il y a une précipitation marquée des substances qui la composent, notamment l'infusion de thé vert, mais les moules traitées dans cette solution ne sont pas affectées par cette couleur verte lorsqu'elles sont égouttées.

L'évaluation sensorielle établit que les différents traitements ont eu un impact négatif sur l'odeur et le goût de la chair des moules. Les observations sur les moules immédiatement après immersion (jour 0) montrent que les concentrations d'inhibiteurs sont trop élevées et modifient négativement les caractéristiques du produit (annexe 5).

Les observations sensorielles faites les jours suivants n'ont pas permis de détecter, au moins jusqu'au jour 4, d'altération d'odeur et de goût. Il a été observé que le traitement au Gravinol, du moins à la concentration utilisée, a modifié fortement la texture de la chair en la durcissant dès le jour 1. La couleur a changé légèrement au jour 4 pour certains traitements. Les moules traitées à l'infusion de thé (B, E, G) sont devenues grisâtres ou même franchement grises.

À partir du jour 6, étant donné l'odeur d'altération de certains échantillons, il a été décidé de cesser d'évaluer le goût de l'ensemble des échantillons. Il est possible que les fragrances herbacées des autres traitements aient masqué en partie d'éventuelles odeurs d'altération. Ces fragrances constituent en soi une caractéristique négative, car elles modifient sensiblement l'odeur typique des moules. Il en va de même de la saveur, assez fortement modifiée par l'huile de romarin.

Les analyses microbiologiques ont montré l'excellente qualité de la matière première utilisée. Pendant l'entreposage à 2 °C, la microflore a rapidement atteint des valeurs élevées dans le contrôle sans additif; une augmentation de 5 logs en 4 jours sous réfrigération indique un développement intense de la charge bactérienne qui a survécu à la cuisson (figure 4).

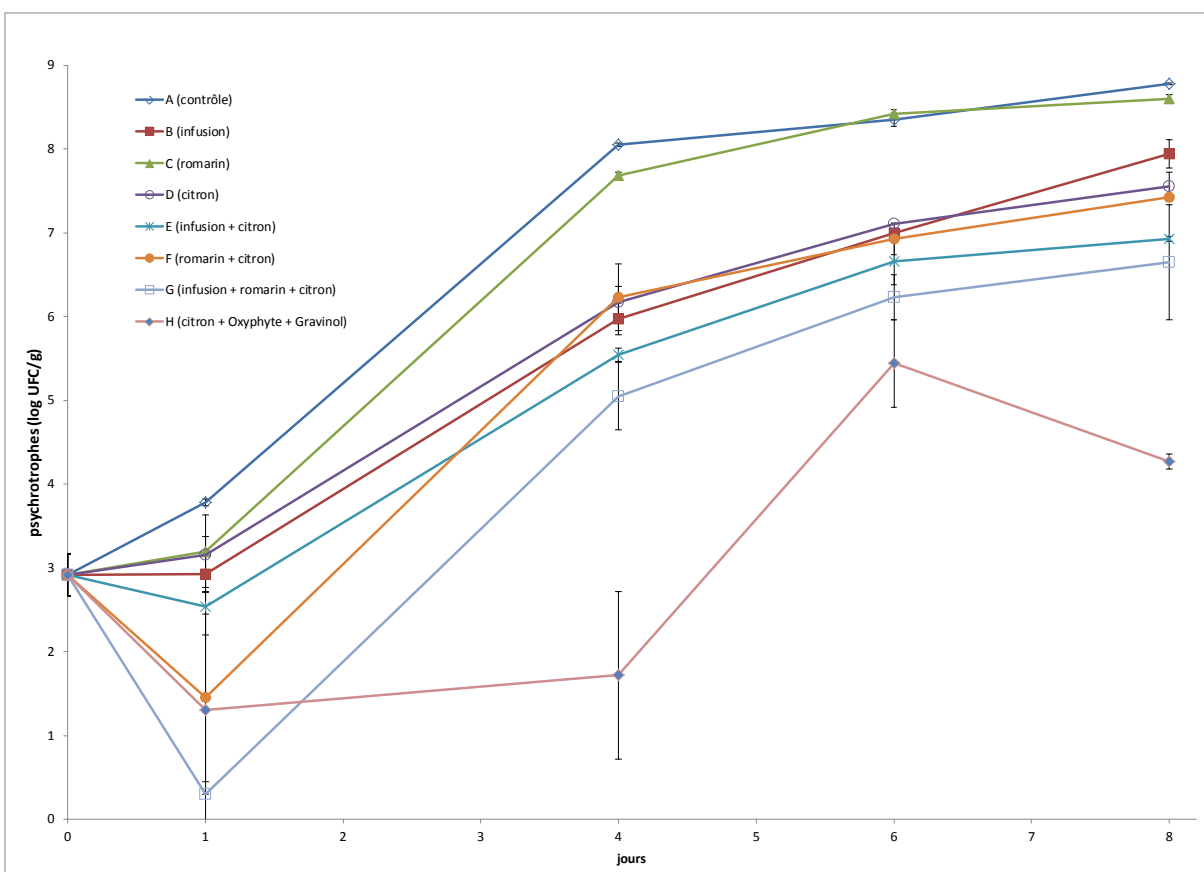


Figure 4. Comptes psychrotrophes de la chair des moules cuites en fonction des inhibiteurs.

L'impact inhibiteur des traitements F, G et H a été très marqué dès le jour 1. En particulier, une réduction de 1,5 log UFC/g de la microflore psychrotrophe est observée dans les moules traitées par la combinaison de citron et de polyphénols de thé et de raisin (traitement H), et le compte demeure inférieur au contrôle de plus de 3 logs jusqu'au 8^e jour. Les traitements B, D et E ont conduit à un allongement de la phase de latence, et à un taux de croissance sensiblement inférieur tout au long des 8 jours de conservation. L'infusion et le jus de citron employés seuls ont eu à peu près le même effet inhibiteur, soit une réduction de 2 logs après 4 jours, et d'un peu plus de 1 log après 6 et 8 jours.

L'acidification de la chair avec le jus de citron, à elle seule, a conduit à des comptes psychrotrophes plus faibles de 0,5 log par rapport au contrôle dès le jour 1. L'effet de l'huile essentielle de romarin utilisée seule (traitement C) est le moins marqué. En combinaison avec le jus de citron, une réduction marquée a été notée au jour 1, mais par la suite cette combinaison ne diffère pas du jus de citron utilisé seul ce qui suggère que l'effet du romarin est mineur.

Selon le seul critère du seuil d'acceptabilité microbiologique de 7 logs UFC/g établi par ICMSF (1986), la durée de conservation des formulations avec inhibiteurs serait allongée de 3 à 5 jours par rapport aux moules contrôles, à l'exception de celles traitées à l'huile essentielle de romarin 2 %. En se référant aux évaluations sensorielles, l'allongement de la durée de conservation s'approche aussi de ces valeurs.

Ainsi, tous les traitements à base d'inhibiteurs, sauf celui avec huile de romarin 2 %, ont conduit à une réduction de la croissance de la microflore psychrotrophe dans les moules cuites traitées en comparaison avec le contrôle non traité, mais les traitements appliqués ont eu un impact important sur les caractéristiques sensorielles du produit. À titre informatif, d'autres inhibiteurs mentionnés plus haut ont été testés (extraits de thé TP85-46; Guardian Tea 20S; Oxyphyte Apple extract; Guardian Rosemary extract #9; Gravinol-S; FoodGuard F440D). Les résultats ont été rapidement décevants sur le plan sensoriel aux premiers essais, et ne sont pas présentés ici.

1.3 Sélection des inhibiteurs applicables aux filets de poisson

Cette partie consiste à appliquer différents traitements à base d'inhibiteurs naturels et d'évaluer s'ils n'entraînent que des modifications acceptables des propriétés sensorielles de la chair de poisson. Il est à noter que le projet initial portait sur un poisson gras (flétan du Groenland) et un poisson non gras (plie). Toutefois, pendant le déroulement du projet, il s'est avéré très difficile de se procurer de la matière première aux moments voulus en raison de la saisonnalité de la pêche et que la plie est devenue une prise accidentelle. Des espèces alternatives ont parfois été utilisées pour les essais.

Procédures

En prévision des essais sur le MAP, il a été décidé d'effectuer systématiquement un léger présaumurage sur tous les filets de poisson qui sont soumis aux essais. En effet, un saumurage léger diminue l'exsudation d'eau résultant de l'emballage MAP (Lauzon *et al.*, 2010; Pastoriza *et al.*, 1998; Goulas & Kontominas, 2007). Après calibrage basé sur le goût, nous avons fixé le saumurage à 5 minutes dans une solution de 3 % de sel.

1.3.1 Émulsification de l'huile essentielle

À la suite des essais sur la crevette et les moules, il a été décidé de renoncer à l'huile essentielle de romarin et d'utiliser l'huile d'origan (Sigma #W282812), jugée plus compatible avec la saveur des poissons. L'application d'huile essentielle exige une dilution dans de l'eau, ce qui entraîne une séparation de phases devant être résolue par une émulsification.

Certaines publications utilisent du Tween 80 de grade alimentaire (Van Haute *et al.*, 2016, Moghimi *et al.*, 2016; Ghosh & Mukherjee, 2013), mais son innocuité n'est pas complètement reconnue. La lécithine de soya (Haberbeck *et al.*, 2012; Xue & Zhong, 2014) a été choisie pour stabiliser l'émulsion lors des essais.

Après quelques tentatives, il est apparu qu'une solution contenant 1 % de lécithine, dissoute dans l'eau pendant 1 heure, permettait d'émulsionner efficacement l'huile d'origan jusqu'à 20 g/100 ml par passage au polytron pendant 60 secondes. L'émulsion demeure stable pendant 24 heures (globules de 2,5-5 µm).

1.3.2 Essais de trempage des filets avec les inhibiteurs

Des filets de plie et de turbot décongelés la veille ont été présaumurés comme décrit plus haut. Les solutions d'inhibiteurs ont été préparées à partir de l'huile d'origan (Sigma W282812), de vinaigre tamponné (Verdad NY8, Purac), d'extraits de thé vert (Oxyphyte Green Tea, RFI Inc.) et ont été appliquées sur la base de références publiées :

- Traitements à l'huile essentielle (HE) :
Contrôle : aucun traitement
 - H1 : préparer l'émulsion 5 % (20 g d'huile d'origan dans 380 ml d'eau et 4 g de lécithine) à température ambiante. Déposer 1 ml et répartir sur les deux faces des filets placés dans un sac puis sceller. Répartir le liquide par massage du sac.
 - H2 : répartir 200 µL de l'huile pure directement à la surface des deux côtés du filet avec un embout de pipette. Sceller et répartir le liquide à la surface.
 - H3 : verser la solution d'émulsion 5 % dans un récipient et y immerger le filet pendant 5 minutes. Retirer et égoutter légèrement. Déposer le filet dans un sac et sceller.
 - H4 à H9 : disperser au polytron des concentrations d'huile d'origan de 2,5 %, 1,25 %, 0,63 %, 0,32 %, 0,15 % et 0,08 % dans de l'eau. Répartir 100 µL de chaque solution sur une pièce de 10 g de filet et étaler sur la surface supérieure. Déposer le filet dans un sac et sceller.
- Traitements au vinaigre tamponné (V) :
Diluer le Verdad NY8 dans de l'eau pour obtenir 0,5 % et à 1,5 %
 - V1 : placer directement 1 ml de Verdad 1,5 % sur les deux côtés (0,5 ml chacun) du filet. Ensacher et sceller. Répartir le liquide à la surface du mieux possible.
 - V2 : Immerger le poisson dans la solution Verdad 0,5 % pendant 5 minutes. Retirer et égoutter. Déposer dans un sac et sceller.
 - V3 : Immerger le poisson dans la solution Verdad 1,5 % pendant 5 minutes. Retirer et égoutter. Déposer dans un sac et sceller.
 - Contrôle : aucun traitement. Placer un morceau de filet directement dans un sac et sceller.
- Traitements aux extraits de thé vert (T) :
 - T1 : préparer une solution (0,5 %) contenant 1,0 g d'extraits de thé Oxyphyte et 200 ml d'eau réfrigérée à 2-4 °C. Immerger le filet de poisson dans la solution pendant 1 heure. Retirer et égoutter sur un grillage. Placer dans un sac et sceller.
 - T2 : répéter T1, mais ne placer que 0,4 g d'extraits de thé dans 200 ml de solution.
 - T3 : répéter T1, mais ne placer que 0,1 g d'extraits de thé dans 200 ml de solution.
 - Contrôle : aucun traitement; placer un morceau de filet directement dans un sac et sceller

Les filets ont été entreposés à 2-4 °C pour la nuit. Le lendemain, les sacs sont tous ouverts pour détecter l'odeur dominante et d'éventuels changements d'apparence. Les filets sont ensuite cuits dans un four à vapeur Vulcain jusqu'à ce que la sonde interne atteigne 68 °C). Après refroidissement, les filets sont goûtés pour en déterminer l'acceptabilité.

- Traitements au vinaigre de malt (FC) :
Cet essai a été fait ultérieurement à ceux des autres inhibiteurs. Immerger des pièces de turbot dans des solutions saumurées (3 % NaCl) de vinaigre de malt à différentes concentrations pendant 15 minutes pour décider de la concentration maximale pouvant être utilisée dans l'essai (couleur à l'état cru et cuit, goût).

Décongeler des morceaux de turbot dans leur emballage sous vide quelques minutes dans de l'eau froide. Préparer les solutions :

- A : 5 % FC (= 5 ml vinaigre malt + 95 ml eau + 3 g sel)
- B : 7 % FC (= 7 ml vinaigre malt + 93 ml eau + 3 g sel)
- C : 8 % FC (= 8 ml vinaigre malt + 92 ml eau + 3 g sel)
- Contrôle : 0 % FC (3 g sel + 100 ml eau)

Laisser tremper pendant 15 minutes. Retirer. Observer la couleur. Cuire à la vapeur et noter la couleur.

Résultats

L'huile d'origan non diluée ainsi que l'émulsion 5 % ajoutée aux filets ne modifie pas la couleur des filets, mais se trouve considérablement trop concentrée. L'odeur est extrêmement dominante à l'ouverture des sacs ainsi qu'après cuisson, entraînant le rejet des filets. Les portions de 100 g de filets retenant env. 5,1 g de liquide, les concentrations finales d'huile d'origan équivalent à 0,25 % (v/w) par trempage dans l'émulsion et 0,05 % (v/w) par dépôt de 1 ml d'émulsion. Les concentrations plus faibles d'huile d'origan (2,5 % à 0,32 %) ont elles aussi été détectées dès l'ouverture des sacs et jugées inacceptables. Un test de goût a été fait sur les filets traités avec la plus faible concentration (0,32 %) et clairement la saveur d'origan domine à un degré jugé inacceptable.

Les extraits de thé vert ont eu un impact beaucoup plus modéré sur le sensoriel. Les filets de plie immergés en solution 0,5 % et 0,2 % ont une odeur fruitée, confèrent une teinte rosée marquée. Après cuisson, le goût typique de poisson est atténué, avec une astringence indésirable. En revanche, la solution 0,05 % laisse à la plie une odeur marine dominante et agréable. Une légère teinte grisâtre semble perçue par certains participants, mais sans doute acceptable pour le consommateur moyen. Après cuisson, le goût de sel est absent (la longue durée de trempage a entraîné la perte de sel), atténuant un peu la saveur typique de poisson.

Les filets de turbot en solution d'extraits de thé 0,05 % sont jugés très acceptables sur le plan du goût et de l'odeur demeurés typiques du produit. La couleur est demeurée blanche, mais des stries plus foncées sont visibles. Cette coloration est plus marquée à 0,2 %. Les filets en solution 0,5 % deviennent trop astringents et une teinte rosée est remarquée. Avec le turbot, une concentration de 0,05 % pourrait être utilisée sans impact majeur, mais il faudrait ajuster le procédé d'immersion pour que le sel du saumurage ne migre pas dans la solution de thé vert.

Le vinaigre tamponné a donné de bons résultats avec les filets de plie et de turbot, car il ne change ni la couleur ni la texture. Après cuisson, l'odeur de vinaigre n'est pas perçue et au goût, une légère impression d'acidité n'est pas désagréable, sauf pour le V3 avec le turbot possiblement à cause d'un effet sur les lipides. Les filets ayant reçu les traitements V1 et V2 satisferaient certainement les critères d'acceptabilité des consommateurs.

Les observations des évaluations sensorielles sont présentées à l'annexe 1. Comme conclusion de cette série d'essais :

- L'étape de présaumurage devrait être intégrée à l'application de l'inhibiteur si le trempage dépasse quelques minutes pour éviter la perte de sel.
- Le vinaigre tamponné est utilisable pour trempage à concentration de moins de 1,5 % avec les deux espèces.
- Le trempage 1 heure dans les extraits de thé 0,05 % est un traitement utilisable avec le turbot, ce qui serait avantageux pour protéger de l'éventuelle oxydation des lipides.
- L'huile d'origan confère au poisson une odeur forte, et une concentration sensoriellement acceptable, a peu de chance d'inhiber la microflore du poisson.

Essai avec le vinaigre de malt

La couleur des filets de turbot est très légèrement plus foncée avec 7 et 8 % lorsqu'on compare côte à côte les morceaux, mais sans comparatif la teinte apparaît tout à fait acceptable. Cependant, on observe, surtout avec 7 et 8 %, que les zones très minces sur les morceaux de filet commencent à montrer des signes d'hydrolyse, un blanchiment détectable apparaît quand on regarde de près. On a traité un filet complet, et l'apparence est tout à fait correcte. Quelques traces d'hydrolyse sont détectées, mais sont jugées acceptables. Après cuisson, l'odeur est typique, le vinaigre non perçu.

La concentration de 7 % de vinaigre de malt est retenue pour un futur essai.



Photo 3. Filet cru traité avec vinaigre de malt à 5, 7 et 8 %.



Photo 4. Filet traité au vinaigre de malt 7 % après cuisson.

1.3.3 Application d'huile essentielle et d'éthanol en phase vapeur

L'huile essentielle modifie beaucoup la saveur et l'odeur des filets de poisson lorsqu'appliquée de la phase liquide par immersion et par dépôt à la surface. Une autre approche pourrait être de mettre en contact atmosphérique le poisson avec la phase vapeur de l'huile très volatile, afin d'en minimiser la pénétration dans la chair. Dans le même sens, l'exposition du poisson à de l'éthanol en phase vapeur sera examinée dans cet essai réalisé en emballage hermétique avec air, comme suggéré par les travaux

de Kapetanakou *et al.* (2014) avec de la viande de porc. De plus, un mélange éthanol/acide acétique décrit dans un brevet (US Patent 4,550, 026) aurait apparemment une certaine efficacité à améliorer la conservation du thon réfrigéré. Ce procédé sera mis à l'essai.

Procédures

Des morceaux de 100 g de turbot et de plie sont initialement saumurés légèrement.

- -F1 : déposer un morceau de 100 g de filet de chacun des poissons dans un récipient de 1 L fermant hermétiquement. Sous le couvercle, coller une pièce de papier filtre d'environ 4 cm x 4 cm. Déposer 5 uL d'huile d'origan au centre du papier et refermer rapidement le couvercle hermétiquement. Entreposer à 2-4 °C pendant 2 heures. Par la suite, retirer le poisson du contenant, laisser reposer à l'air libre 5 minutes pour évaporer l'excédent et le déposer dans un sac de plastique et sceller. Entreposer à 2-4 °C jusqu'au lendemain.
- -F2 : *idem* au traitement F1 en réduisant la quantité d'huile à 2 uL.
- -F3 : *idem* au traitement F1 et prolonger l'exposition aux vapeurs pendant 16-18 heures à 2-4 °C.
- -F4 : *idem* au traitement F1, mais avec 15 uL d'huile.
- -F5 : dans un tube mélanger 2 000 uL d'éthanol absolu et 20 uL d'acide acétique glacial. Déposer un morceau de 100 g de filet de chacun des poissons dans un récipient de 1 L fermant hermétiquement. Sous le couvercle, coller une pièce de papier absorbant d'environ 8 cm x 4 cm. Déposer tout le contenu du mélange EtOH-acide acétique au centre du papier et refermer le couvercle hermétiquement. Entreposer à 2-4 °C jusqu'au lendemain.
- F6 : *idem* au traitement F5, avec 2000 uL d'éthanol absolu et 100 uL d'acide acétique glacial.
- F7 : *idem* au traitement F6, avec 4000 uL d'éthanol et en prolongeant le contact pendant 16-18 heures à 2-4 °C.
- F8 : dans un tube mélanger 2 000 uL d'éthanol absolu et 2 uL d'huile d'origan. Exposer les filets de 100 g (turbot et plie) comme précédemment pendant 2 heures puis évaporer l'excédent à l'air libre 5 minutes. Déposer dans un sac de plastique et sceller. Entreposer à 2-4 °C jusqu'au lendemain.
- F9 : dans un tube mélanger 2 000 uL d'éthanol absolu avec 2 uL d'huile d'origan, les dissoudre; ajouter 100 uL d'acide acétique glacial. Déposer un morceau de 100 g de filet de chacun des poissons en même temps dans un récipient de 1 L fermant hermétiquement. Sous le couvercle, coller une pièce de papier absorbant (chiffon de nettoyage) d'environ 8 cm x 4 cm. Déposer tout le contenu du mélange EtOH-HE-acide au centre du papier et refermer le couvercle hermétiquement. Entreposer à 2-4 °C jusqu'au lendemain.

Le poids des morceaux des poissons est mesuré avant et après exposition pour estimer les pertes d'eau. Le lendemain suivant les traitements, l'acceptabilité est évaluée par l'odeur des filets traités avant et après cuisson. Les filets sont ensuite cuits au four à vapeur et soumis aux évaluateurs en panel restreint pour en évaluer le goût et l'apparence.

Les observations faites après ces traitements ont conduit à modifier certains des paramètres et à inclure les traitements suivants :

- F11 : exposition à la phase vapeur de l'éthanol et de l'huile d'origan (plie seulement). Le filet de plie (env. 75 g) a été immergé pendant 5 minutes dans une solution de sel à 3 % et égoutté sur des essuie-tout, puis déposé dans un récipient de 2 L dans lequel étaient placées deux pièces de chiffon double épaisseur de 8 x 8 cm prélavées. La solution inhibitrice était constituée de 10 ml d'éthanol et 75 uL d'huile essentielle d'origan mélangés dans un tube. 4 ml du mélange a été déposé sur le chiffon J (2 ml par pièce) et le couvercle scellé après fermeture avec du *parafilm*. Le filet a été exposé aux vapeurs en chambre froide pendant 2 heures. Après exposition, le filet a été transféré dans un autre récipient vide, scellé avec du *parafilm* et remis en chambre froide jusqu'au lendemain.

- F12 : trempage en émulsion d'huile essentielle. Une émulsion a été préparée en solubilisant pendant 45 minutes avec agitation 4 g de lécithine de soya dans 400 ml d'eau, dans laquelle 12 g de sel ont été ajoutés et 1,28 ml d'huile essentielle d'origan; la solution a été passée au polytron 1 minute à vitesse maximale. Les filets de plie (env. 75 g) et de turbot (env. 100 g) ont été immergés dans cette solution pendant 5 minutes puis égouttés et placés dans un sac de plastique scellé. Les filets ont été entreposés en chambre froide jusqu'au lendemain.
- F13 : trempage dans le vinaigre tamponné. La solution de trempage était préparée en mélangeant 15 ml de Verdad NY8 et 30 g de sel de table dans 985 ml d'eau du robinet réfrigérée. Les filets de plie et de turbot ont été immergés dans 400 ml de solution pendant 5 minutes puis égouttés et placés en sacs scellés. Les filets ont été entreposés en chambre froide jusqu'au lendemain.
- F14 : immersion dans l'extrait de thé vert. La solution de trempage était préparée en mélangeant 1 g d'extraits de thé vert Oxyphyte et 30 g de sel de table dans 1 000 ml d'eau du robinet réfrigérée. Les filets de plie et de turbot ont été immergés dans 400 ml de solution pendant 60 minutes puis égouttés et placés en sacs scellés. Les filets ont été entreposés en chambre froide jusqu'au lendemain.

Résultats

Pour alléger la présentation, les observations des évaluateurs sont résumées.

Odeur : L'odeur des filets des deux espèces à l'exposition à 2 et 5 uL d'huile d'origan pendant 2 heures (F1 et F2) confère une fragrance d'origan détectable, mais acceptable. La prolongation de l'exposition pendant 18 heures en accentue considérablement l'odeur décline le produit. Le traitement avec 15 uL d'huile (F4) est acceptable pour la plie, mais les évaluateurs n'ont pas tous apprécié dans le cas du turbot. Le traitement incorporant de l'acide acétique (F5) est apparu comme acceptable, bien qu'un évaluateur ait perçu une odeur légère de vinaigre. Le traitement F8 a quant à lui reçu une bonne note. L'odeur d'éthanol à l'ouverture s'estompe rapidement et l'odeur de poisson est jugée normale. Le traitement F11, bien que jugé acceptable, laisse une légère odeur d'éthanol au filet de plie à l'ouverture et qui persiste après cuisson, mais l'odeur d'origan n'est pas détectée. L'immersion dans l'émulsion d'huile essentielle (F12) transmet une odeur dominante d'origan avant et après cuisson aux deux espèces. L'odeur typique de poisson marin est demeurée inchangée avec le vinaigre tamponné (F13), sans que celui-ci soit détectable avant et après cuisson. Il en va de même avec l'extrait de thé (F14).

Goût : les traitements à base d'huile d'origan (F1 à F4; F8 à F11) donnent un mauvais goût au turbot (forte amertume), probablement en raison d'une dissolution plus marquée de l'huile dans les tissus gras du turbot. L'application de l'huile en phase vapeur n'a pas permis d'atténuer la saveur indésirable. Les filets de plie ont été mieux notés, mais même avec une immersion dans seulement 0,32 % d'huile (F12) la saveur d'origan est trop prononcée. Les traitements comportant de l'éthanol en phase vapeur (F5 à F7) laissent une saveur d'alcool à la plie et au turbot, même si l'exposition est courte, ce qui les rend inacceptables. En revanche, les traitements avec le vinaigre tamponné et les extraits de thé vert (F13 et F14) ont été bien notés. Un des évaluateurs a noté une pointe d'acidité avec la plie traitée avec le Verdad, demeurant très acceptable. Le goût des filets de plie et de turbot traités aux extraits de thé vert a également été jugé similaire à celui des filets contrôles, sauf sur un paramètre. En effet, le trempage d'une heure en saumure 3 % avec extraits de thé engendre une trop forte charge de sel. Il faudrait découpler l'exposition au thé vert et le saumurage léger. Aucune saveur de thé n'a été notée dans les filets.

Apparence : les filets de plie traités avec l'huile, l'éthanol, et avec le vinaigre tamponné ne sont pas différents du contrôle. Avant cuisson, ceux traités avec les extraits de thé paraissent légèrement plus rosacés que le contrôle lorsque celui-ci est placé juste à côté. Après cuisson, la teinte un peu crème observée dans le contrôle passe à blanc plus franc avec l'extrait de thé. Quant aux filets de turbot avant cuisson, les traitements ne changent pas l'apparence, sauf un léger rosissement acceptable avec l'extrait de thé. Les filets après cuisson sont légèrement plus rosés avec les extraits de thé. Le vinaigre tamponné rend le turbot cuit d'un blanc un peu plus franc (photos 6-7).

Le traitement en phase vapeur contenant de l'éthanol a entraîné une perte d'eau plus élevée que celle du contrôle (2,8 à 4,2 % par rapport à 1,1 % du contrôle).



Photo 5. Plie après cuisson : a) phase vapeur origan/éthanol, b) contrôle, c) extrait de thé, d) vinaigre tamponné, e) immersion en émulsion d'huile d'origan.



Photo 6. Turbot avant cuisson : a) extrait de thé, b) contrôle, c) vinaigre tamponné, d) immersion en émulsion d'huile d'origan.

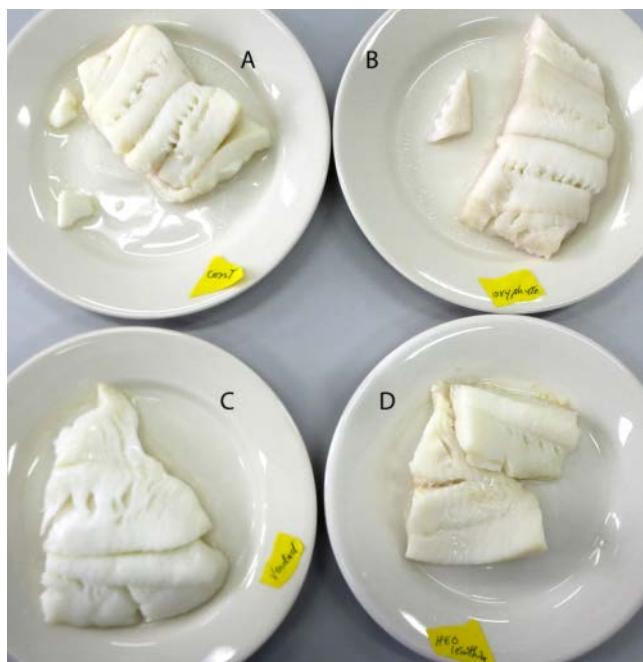


Photo 7. Turbot après cuisson : a) contrôle, b) extrait de thé, c) vinaigre tamponné, d) émulsion d'huile d'origan.

Il ressort de ces essais que certains traitements seraient plus acceptables sur le plan sensoriel avec les filets de poisson. L'extrait de thé en solution à 0,1 % apparaît comme le traitement le plus en mesure de jouer un rôle d'inhibiteur tout en réduisant l'impact sensoriel. Il sera nécessaire de modifier l'étape de saumurage de manière à éviter la perte de sel en ajoutant celui-ci à la solution à la fin du trempage dans les extraits de thé vert. Le trempage dans la solution de vinaigre tamponné 1,5 % ainsi que dans le vinaigre de malt 7 % est également une option utilisable. Malgré toutes les combinaisons testées, le traitement par trempage dans l'émulsion d'huile essentielle se révèle délétère envers les filets de poisson, trop délicats pour le supporter sans modifier les qualités sensorielles.

2. Effet des traitements sur les indices de fraîcheur

Les essais effectués dans la partie 1 ont conduit à amorcer l'évaluation de l'effet antimicrobien d'extraits de thé vert et de pépins de raisin; les vinaigres se sont aussi révélés des inhibiteurs potentiels utilisables avec le poisson. Cependant, les concentrations d'inhibiteurs efficaces sans détérioration de la qualité sensorielle des filets de poisson sont plutôt faibles. La série de mesures qui suit visait à déterminer si ces concentrations entraînent un effet notable sur les indices de fraîcheur. Ces indices globaux sont les comptes bactériens aérobies psychrotrophes, les teneurs en azote basique volatil total (ABVT), l'indice d'oxydation totox (somme de l'indice p-anisidine et du double de l'indice de peroxyde) et le pH. Également, il a été essayé de constater l'effet combiné d'huile essentielle d'origan et d'éthanol sur de la chair de poisson exposée à ces inhibiteurs en phase vapeur. Enfin, nous avons tenté d'appliquer les inhibiteurs en les combinant à un enrobage de polysaccharides comestible plutôt que par immersion.

Il est à noter que pendant les travaux, il a été très difficile de s'approvisionner en matière première malgré la saison de pêche, et que la fraîcheur très variable n'a pas permis de se concentrer sur une seule espèce de poisson. Ainsi, quelques essais d'allongement de la conservation ont été faits sur des filets qui se sont révélés de qualité médiocre (les résultats des analyses n'étant obtenus que plusieurs jours après les essais). C'est pourquoi les expérimentations ont été conduites sur des espèces de remplacement (morue, turbot, saumon, omble d'aquaculture) en fonction de la saison de pêche.

2.1 Première série d'application d'inhibiteurs

Il s'agit ici de mesurer l'effet de l'immersion d'inhibiteurs appliqués sur des filets par immersion. Également, avant d'écarter définitivement l'huile essentielle, nous avons voulu examiner l'effet de l'application de l'huile d'origan par exposition à la phase vapeur plutôt que par contact direct. L'exposition aux vapeurs d'éthanol a aussi été testée, étant donné des résultats publiés dans des produits carnés.

Procédures

Des filets de turbot ainsi que de morue en pièces de 100-150 g ont été utilisés dans cet essai.

- Contrôle : saumurage par immersion 5 minutes dans une solution de 3 % NaCl. Les pièces ont été retirées et puis égouttées sur du papier essuie-tout, puis déposées en sacs scellés avec air. Entreposage à 2-4 °C.
- T4 : 1 g d'extrait de thé vert Oxyphyte est mélangé à 1 000 ml d'eau du robinet réfrigérée. Deux pièces y ont été immergées pendant 55 minutes puis retirées temporairement et 30 g de sel de table ont été ajoutés à la solution, dans laquelle les pièces sont replongées 5 minutes, puis retirées et égouttées sur une grille de métal. Les pièces ont été disposées en sacs individuels scellés (avec air) et entreposées à 2-4 °C.
- V4 : un mélange de 15 ml de Verdad NY8 et de 30 g de sel de table a été dissous dans 985 ml d'eau du robinet réfrigérée. Deux pièces ont été immergées 5 minutes puis égouttées sur une grille. Les pièces ont été disposées en sac scellé (avec air) en entreposées à 2-4 °C.
- F10 : les pièces de poisson ont été immergées 5 minutes dans une solution de saumure NaCl 3 % et égouttées, puis déposées dans un bac de 2 litres dans lequel a été installé à chaque extrémité deux pièces de chiffon double épaisseur de 8 x 8 cm prélavées et séchées à l'air. Sur ces tissus, 4 ml d'une solution volatile contenant 10 ml d'éthanol et 10 uL d'huile essentielle d'origan ont été répartis. Le couvercle du bac a été fermé de manière étanche à l'aide de *parafilm*. Le bac a été placé temporairement à 2-4 °C pendant 2 h. Après cette période d'exposition aux vapeurs, les pièces ont été transférées dans des sacs individuels scellés et entreposées à 2-4 °C.
- F11 (appliqué à la morue seulement): les pièces de poisson ont été immergées 5 minutes dans une solution de saumure NaCl 3 % et égouttées et déposées dans un récipient de 2 L fermant hermétiquement. Un morceau de papier filtre d'environ 4 x 4 cm a ensuite été collé sous le couvercle, sur lequel 20 uL d'huile essentielle d'origan ont été pipettés. Le couvercle du bac a été recouvert de manière étanche à l'aide de *parafilm*. Le bac a été placé temporairement à 2-4 °C pendant 2 h. Après cette période d'exposition, les pièces ont été transférées dans des sacs individuels scellés et entreposées à 2-4 °C.

Trois échantillons de chaque groupe ont été prélevés pour analyses juste avant traitement et après 6 jours (morue) ou 7 jours (turbot) d'entreposage à 2-4 °C. Les analyses microbiologiques et biochimiques ont ensuite été faites.

Résultats

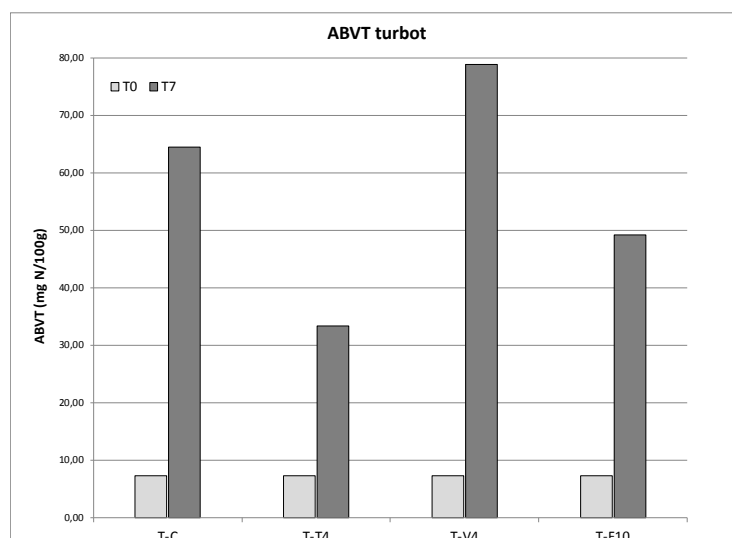
Turbot (flétan du Groenland)

Le turbot utilisé comme matière première pour les traitements était de très bonne qualité, avec un compte microbien de 4,3 logs UFC/g, un ABVT de 7,2 mgN/100g, un pH de 6,97 et un indice d'oxydation tototox entre 1,01 et 3,03. Après les sept jours de conservation à 2-4 °C, tous les indicateurs sauf l'indice d'oxydation ont augmenté notablement et l'odeur des échantillons indiquait qu'ils étaient manifestement dégradés. La hausse du compte psychrotrophe et du pH sont légèrement, mais significativement moindre pour le traitement au thé vert T4 par rapport au contrôle (tableau). En particulier, le traitement au thé vert T4 s'est montré nettement plus efficace et a permis de limiter l'augmentation de l'ABVT sous les 35 mgN/100g, valeur indiquant une altération avancée. Le traitement F10 en phase vapeur a également limité la hausse d'ABVT, mais pas le vinaigre tamponné. L'indice tototox un peu plus variable parmi les réplicats est demeuré sensiblement le même pendant l'entreposage.

Tableau 5. Indices de fraîcheur après 7 jours à 2-4 °C du turbot traité avec extrait de thé vert, vinaigre tamponné, et exposition à la phase vapeur (lettres minuscules différentes indiquent une différence significative entre les traitements à $p < 0,05$).

	Psychrotrophes (log UFC/g)	ABVT (mgN/100g)	pH	Indice totox (2PV+p-AV)
Contrôle	8,68 ^a	64,4 ^a	7,19 ^a	2,72 ^a
T4	8,10 ^b	33,38 ^b	6,96 ^b	2,7 ^a
V4	8,37 ^a	78,87 ^c	7,24 ^a	1,76 ^a
F10	8,24 ^a	49,14 ^b	7,07 ^a	0,97 ^a

Le traitement à l'extrait de thé vert est celui qui a le plus contribué à limiter la hausse des indices de fraîcheur dans le cas du turbot exposé à l'air. Ces résultats portent à le sélectionner pour utilisation en combinaison avec l'emballage en atmosphère modifiée. Il est intéressant de noter que l'indice totox est demeuré très faible pendant les sept jours d'entreposage pour tous les traitements ainsi que le contrôle, alors qu'une certaine oxydation des lipides de cette espèce grasse était attendue. Un seuil de l'ordre de 26 de l'indice totox est considéré impropre à la consommation humaine (Haq *et al.*, 2016). La baisse apparente de l'indice du traitement F10 n'est probablement due qu'aux valeurs très basses peu significantes. Ces données sont demeurées trop basses pour mesurer l'effet des traitements sur l'évolution de l'oxydation des lipides.



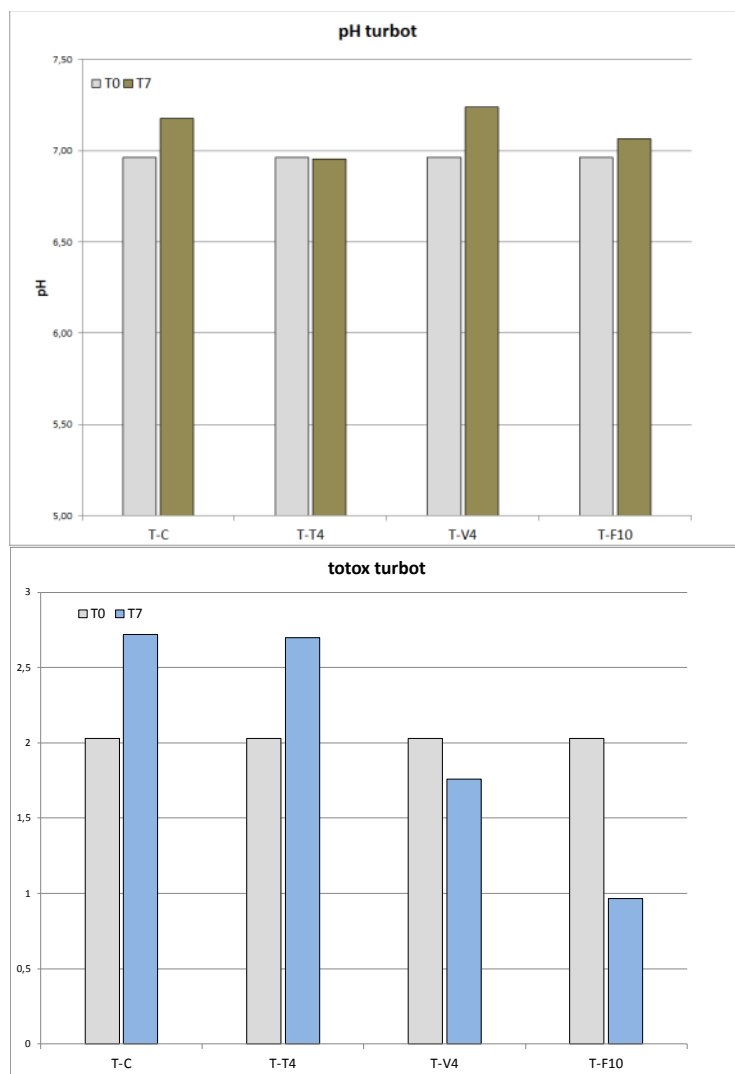


Figure 5. Évolution des indices biochimiques d'altération du turbot après traitements T4, V4 et F10.

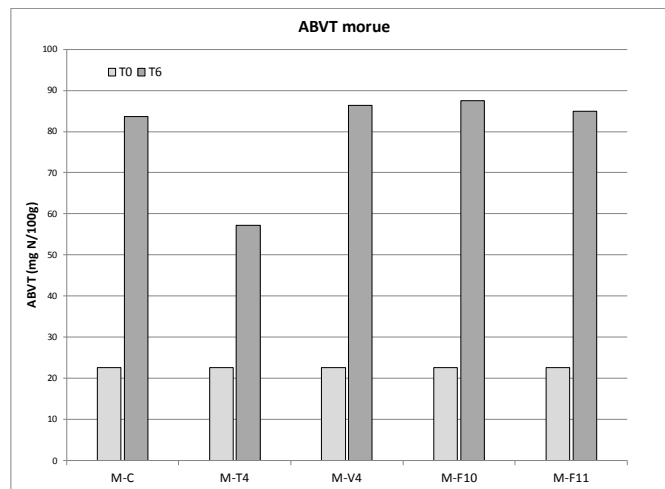
Morue

Les résultats obtenus lors de cet essai en juin avec la morue est à relativiser, car malheureusement la matière première initiale s'est révélée après coup de qualité médiocre sur le plan de la microflore psychrotrophe et de l'ABVT (comptes élevés de plus de 7 logs/g, ABVT entre 19 et 25 mgN/100 g), bien qu'elle ait été filetée le jour même de la réception, le fournisseur n'avait pas été en mesure de mentionner le jour de pêche. Néanmoins, le taux d'ABVT après les 6 jours d'entreposage à 2-4 ° C était significativement moindre avec le traitement à l'extrait de thé vert que celui du contrôle et des autres traitements.

Sur le plan de la charge microbienne, les traitements au vinaigre tamponné et aux phases vapeur ont eu un effet inhibiteur faible, mais significativement plus marqué que l'extrait de thé (dans la mesure où les échantillons étaient déjà en partie altérés au départ). Les valeurs de pH ne différaient pas de celles du contrôle pour tous les traitements.

Tableau 6. Indices de fraîcheur après 6 jours à 2-4 ° C de la morue traitée avec extrait de thé vert, vinaigre tamponné et exposition à la phase vapeur (exposants différents dans une même colonne indiquent une différence significative par rapport au contrôle).

	Psychrotrophes (log UFC/g)	ABVT (mgN/100g)	pH
Contrôle	8,57 ^a	83,66 ^a	7,14 ^a
T4	8,56 ^a	57,22 ^b	6,93 ^a
V4	8,25 ^b	86,33 ^a	7,12 ^a
F10	8,25 ^b	87,48 ^a	7,23 ^a
F11	8,38 ^b	84,38 ^a	7,12 ^a



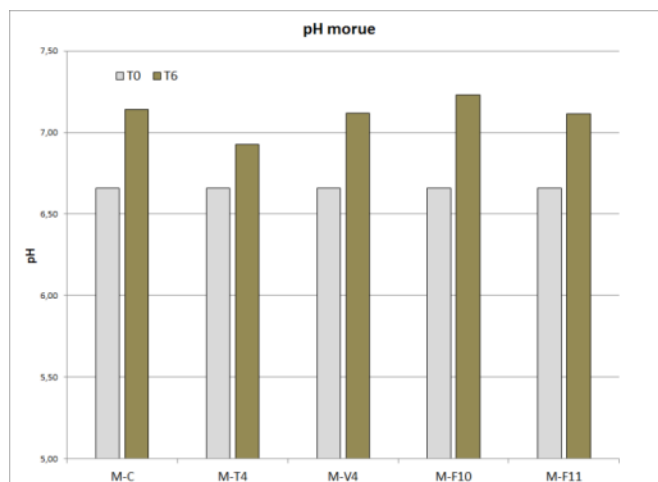


Figure 6. Comparatifs entre les traitements aux jours 0 et 6.

2.2 Seconde série d'application d'inhibiteurs

Étant donné les résultats obtenus avec de la morue de fraîcheur médiocre, une partie de cet essai a été repris en août avec de la matière première d'une provenance différente (usine de transformation acceptant de fournir la morue le jour même de sa réception).

D'autres inhibiteurs, comme le vinaigre balsamique, ainsi qu'une façon différente de les appliquer ont été mis à l'essai avec le poisson. L'incorporation d'inhibiteurs dans un enrobage comestible à base de polymères de protéines et de polysaccharides a déjà été réalisée par d'autres équipes. La chitosane, les alginates et la gélatine de poisson peuvent servir de matrice de support à des substances protectrices appliquées à des filets de poisson et à de la crevette (Li *et al.*, 2013; Feng *et al.*, 2017). La température d'entreposage en chambre à température contrôlée a également été ajustée à 1-2 °C afin de maximiser l'effet protecteur potentiel des traitements.

Procédures

Les filets de morue ont été découpés en pièces d'environ 50 g, mélangés ensemble pour uniformiser le lot. Les traitements suivants ont été appliqués :

- **Contrôle** : quatre morceaux de filet de 50 g ont été immergés 5 minutes dans une solution de sel de table 3 % réfrigérée, puis retirés et égouttés sur un papier absorbant, tel que fait précédemment. Les morceaux ont été placés en sacs et scellés avec air et entreposés à 1-2 °C.
- **GV** (enrobage gélatine +Verdad 4 %) : quatre morceaux de 50 g ont été présaumurés 5 minutes dans la saline NaCl 3 % réfrigérée, puis transférés dans la solution d'enrobage. Celle-ci a été préparée en versant comme polymère de support 14 g de gélatine de poisson (Gelima a.s. Slovakia, lot #G1002600, 200 bloom) dans 955 ml d'eau du robinet. La solution est placée dans un bain d'eau à 45-50 °C pour environ 1 heure, le temps de dissoudre la gélatine de manière statique. Après dissolution, 40 ml de Verdad est ajouté avec agitation, puis 3,8 g de glycérol est versé (plastifiant) avec agitation. Le mélange a été refroidi à 30-40 °C et versé dans un récipient pour y enrober rapidement les morceaux de poisson pendant 10-20 secondes puis les retirer en égouttant l'excédent. Les morceaux ont été placés sur une grille pour séchage 1 h au frigo, puis transférés dans un sac scellé avec air et entreposés à 1-2 °C.
- **GVGr** (enrobage gélatine+Verdad 4 % +Gravinol 0,1 %) : quatre morceaux de 50 g ont été présaumurés 5 minutes dans la saline NaCl 3 % réfrigérée, puis transférés dans la solution d'enrobage. La solution est composée de 1,0 g de Gravinol a été dissous dans 955 ml d'eau du robinet, puis 14 g de gélatine de poisson ont été ajoutés. La solution a été maintenue dans un bain d'eau à 45-50 °C pour environ 1 heure. Après dissolution, 40 ml de Verdad sont ajoutés

avec agitation, puis 3,8 g de glycérol sont versés (plastifiant) avec agitation. Le mélange a été refroidi à 30-40 °C et versé dans un récipient pour y enrober les morceaux de poisson pendant 10-20 secondes et les retirer en égouttant l'excédent. Les morceaux ont été placés sur une grille pour séchage 1 h au frigo puis transférés dans un sac scellé avec air et entreposés à 1-2 °C.

- SG : (saumurage acide 4 % puis enrobage) : quatre morceaux de 50 g ont été présaumurés 5 minutes dans 960 ml de saline NaCl 3 % réfrigérée. Les morceaux ont été retirés et 40 ml de Verdad ont été ajoutés à la saumure. Les morceaux ont réimmergés pendant 1 minute puis transférés dans la solution d'enrobage préparée en versant 14 g de gélatine de poisson dans 955 ml d'eau du robinet. La solution a été placée dans un bain d'eau à 45-50 °C pour environ 1 heure. Après dissolution, 3,8 g de glycérol sont versés avec agitation. Le mélange a été refroidi à 30-40 °C et versé dans un récipient pour y enrober les morceaux de poisson pendant 10-20 secondes et les retirer en égouttant l'excédent. Les morceaux ont été placés sur une grille pour séchage 1 h au frigo puis transférés dans un sac scellé avec air et entreposés à 1-2 °C.
- M10 (saumure 2 % + vinaigre balsamique 10 %) : quatre morceaux de 50 g ont été immergés pendant 15 minutes dans la solution réfrigérée 10 % (100 ml de vinaigre balsamique + 20 g de NaCl + 900 ml eau du robinet. La saumure a été réduite à 2 %, car le temps de trempage passe à 15 min au lieu de 5). Les morceaux ont été retirés et placés dans un sac scellé avec air et entreposé à 1-2 °C.
- M4 (saumure 2 % + vinaigre balsamique 4 %) : quatre morceaux de 50 g ont été immergés pendant 15 minutes dans la solution réfrigérée 4 % (40 ml de vinaigre balsamique + 20 g de NaCl + 960 ml eau du robinet) au frigo. Les morceaux ont été retirés et placés dans un sac scellé avec air et entreposé à 1-2 °C.
- T4 : traitement décrit dans la partie 2.1.
- F10 : traitement décrit dans la partie 2.1.

Résultats

Il a été extrêmement difficile d'obtenir de la morue de fraîcheur satisfaisante. Il était impossible de connaître le jour de pêche et de contrôler les temps d'attente avant l'arrivée à l'usine. Le fournisseur a indiqué ne pas être en mesure de maîtriser ce paramètre, car il s'agit de prises accidentelles, il n'y a donc aucun moyen de prévoir l'arrivage. Cette fois encore, les indices de fraîcheur ont montré après coup que la qualité laissait à désirer (compte psychrotrophe initial de 6,9 logs UFC/g et pH 6.89), données impossibles à obtenir avant de lancer l'expérimentation.

La formule de bioenrobage de gélatine avec Verdad et Gravinol s'est révélée inapplicable. Le Gravinol s'est dissous dans l'eau, mais en contact avec la gélatine des amas insolubles se sont formés, qu'il n'a pas été possible de disperser même en passant la solution au polytron pendant plusieurs minutes.

Les traitements à l'extrait de thé vert, au vinaigre balsamique 10 % et l'exposition aux phases vapeur ont très légèrement atténué la prolifération des bactéries psychrotrophes après trois jours d'entreposage réfrigéré (tableau 6). En raison de la qualité initiale insatisfaisante de la morue au départ, les comptes bactériens ont déjà plafonné près des limites dès le jour 3, de sorte que les résultats des analyses microbiologiques du jour 6 ne permettent plus de comparaisons.

L'ABVT s'est révélé moindre que le contrôle au jour 3 dans la morue traitée avec le vinaigre balsamique 10 %, mais cet effet n'a pas perduré jusqu'au sixième jour. Le vinaigre balsamique 4 % n'a pas eu d'effet. Le vinaigre tamponné Verdad, appliqué à l'étape du saumurage (SG) ou de l'enrobage (GV), n'a pas beaucoup influencé le pH ni conduit à des résultats intéressants sur le plan des indices de qualité. Les taux d'ABVT étaient un peu plus faibles (mais non significativement) avec l'extrait de thé. Après 6 jours, les valeurs étaient toutes très élevées pour tous les traitements, l'état de dégradation étant fortement avancé dans tous les cas. Les traitements SG et GV de bioenrobage combinant gélatine et vinaigre tamponné ont un peu atténué (mais non significativement) la production d'ABVT au jour 3, mais pas au jour 6, alors que l'exposition à la phase vapeur n'a aucunement contribué à atténuer la hausse des indices biochimiques. Quant au pH, les valeurs mesurées au jour 3 avec les traitements au vinaigre balsamique (4 et 10 %) étaient un peu moindres que celle du contrôle, ce qui est attribuable à l'acide acétique.

Tableau 7. Indices de fraîcheur après 3 et 6 jours à 2-4 °C de la morue traitée avec extrait de thé vert, vinaigre tamponné et exposition à la phase vapeur.

	Psychrotrophes (log UFC/g)		ABVT (mgN/100g)		pH	
	Jour 3	Jour 6	Jour 3	Jour 6	Jour 3	Jour 6
Contrôle	8,56 ^a	8,58 ^a	40,49 ^a	62,39 ^a	7,26 ^a	7,52 ^a
GV	8,40 ^a	8,55 ^a	33,61 ^a	74,23 ^a	7,17 ^a	7,59 ^a
SG	8,50 ^a	8,57 ^a	37,80 ^a	69,92 ^a	7,18 ^a	7,51 ^a
M10	8,01 ^b	8,59 ^a	24,68 ^b	73,64 ^a	6,42 ^b	6,97 ^b
M4	8,39 ^{ab}	8,51 ^a	38,08 ^a	74,29 ^a	6,88 ^b	7,18 ^a
T4	8,34 ^b	8,46 ^a	28,03 ^a	59,91 ^a	7,09 ^a	7,45 ^a
F10	8,39 ^b	8,24 ^a	47,95 ^a	74,64 ^a	7,30 ^a	7,54 ^a

Malheureusement, à l'application du traitement avec le vinaigre balsamique 10 % et dans une moindre mesure avec 4 %, les morceaux de filets ont acquis une teinte brunâtre inacceptable due à la couleur très foncée du vinaigre (photo 8).



Photo 8. Pièces de morue traitées au vinaigre balsamique 4 et 10 %.

2.3 Traitements avec le vinaigre de malt et extrait de thé

Le vinaigre balsamique n'a pas donné les résultats escomptés. Dense et foncé, il confère au poisson une teinte brune désagréable. Le vinaigre de malt, ambré mais nettement moins coloré que le vinaigre balsamique, et contenant 5 % d'acide acétique en plus d'autres constituants, pourrait être une alternative. Une publication de Lingham *et al.* (2012) décrit l'utilisation du vinaigre de malt en vue de la conservation de filet de poisson blanc. Le vinaigre de malt a été choisi pour la suite de l'essai, seul et en combinaison avec l'extrait de thé vert Oxyphyte, qui s'est révélé l'inhibiteur le plus adéquat jusqu'à maintenant.

Procédures

Pour déterminer au préalable quelle concentration de vinaigre de malt n'affectait pas la qualité du poisson, des pièces de morue ont été immergées dans trois concentrations de vinaigre de malt (VM) pendant 15 minutes puis cuites.

Solutions de trempage :

- (1) : 0 % (contrôle sans trempage)
- (2) : 5 % vinaigre de malt (= 0,25 % acide acétique)
- (3) : 0,5 % vinaigre de malt (= 0,025 % acide acétique)
- (4) : 10 % vinaigre de malt (= 0,5 % acide acétique)

Cet essai terminé, une reprise avec une concentration intermédiaire de vinaigre de malt a été planifiée. Cependant il n'a plus été possible de se procurer de turbot frais non congelé, la saison de pêche au turbot s'étant terminée plus tôt qu'annoncé. Il a donc été nécessaire de le remplacer par la seule matière première non congelée disponible, de l'omble chevalier d'aquaculture, la proximité d'un élevage à Gaspé permettant de s'approvisionner au moment voulu en poisson vivant. Des ombles ont été prélevés et filetés environ 1 heure après l'abattage. Les filets entiers sans la peau ont été entreposés à 1-2 °C jusqu'au lendemain.

Les solutions de traitement prérefrigérées ont été préparées comme suit. Le présaumurage léger doit être fait en ajoutant du sel de table en cours de trempage, car la durée du saumurage ne correspond pas à celle de l'immersion dans le vinaigre malté.

Les filets ont été découpés en pièces de 50-60 g pour le trempage dans les solutions de vinaigre de malt 7 % (VM) et de vinaigre de malt additionné d'extrait de thé vert Oxyphyte 0,1 % (VM-T).

Traitements appliqués

- Contrôle : immersion des pièces d'omble (environ 1 kg) dans 1,5 L de saumure 3 % réfrigérée pendant 5 minutes.
- VM-T : immersion des pièces d'omble dans la solution de Oxyphyte Green Tea 0,1 % (environ 650 g de chair dans 1 litre) pendant 45 minutes. Après les avoir retirées, ajout de 75,3 ml de vinaigre de malt (7 %). Les pièces sont réimmergées pendant 10 minutes et retirées à nouveau le temps d'ajouter à la solution 30 g de sel de table. Les pièces ont ensuite été immergées dans cette solution pendant 5 minutes.
- VM : immersion des pièces d'omble (environ 650 g) dans la solution de vinaigre de malt à 7 % pendant 10 minutes et retirées le temps d'ajouter à la solution 30 g de sel de table. Les pièces ont ensuite été immergées dans cette solution pendant 5 minutes.

Tous les échantillons ont été entreposés à 1-2 °C dans des sacs de plastique en présence d'air. Des prélèvements ont été faits sur les filets immédiatement avant traitements, et après 12 jours d'entreposage sur les filets traités (trois pièces par traitement). Les échantillons ont été transmis au laboratoire de microbiologie pour les analyses décrites plus haut.

Résultats

L'immersion pendant 15 minutes dans les solutions à 0,5 % et 5 % de vinaigre de malt n'a pas modifié la couleur de la morue crue et cuite, mais une teinte foncée a été observée sur les morceaux de morue avec une solution à 10 % avant ainsi qu'après cuisson (photos). Aucune odeur de vinaigre n'a été détectée avec 0,5 % et 5 %, et le goût des pièces cuites n'a pas été différent du contrôle, si ce n'est une très légère saveur de malt dans l'échantillon traité avec 5 % de vinaigre de malt.



Photo 9. Morue traitée au vinaigre de malt avant cuisson.



Photo 10. Morue traitée au vinaigre de malt après cuisson.

Par conséquent il a été jugé qu'une solution contenant entre 5 et 10 % de VM serait adéquate pour la suite de l'essai. Une concentration de 7 % est retenue pour la suite avec les filets d'omble.

L'apparence de la chair d'omble avant cuisson montrait quelques traces de blanchiment, accentuées du fait de sa couleur orangée, signe qu'elle était partiellement hydrolysée. L'odeur de vinaigre était faible, mais détectable. Après cuisson, l'odeur vinaigrée n'était plus détectée. La couleur était très acceptable, peut-être même légèrement plus orangée que le contrôle selon certains évaluateurs (photo 11). Le goût différait peu du contrôle, mais une légère acidité en bouche était détectable bien qu'acceptable.



Photo 11. Apparence des filets d'omble traités au vinaigre de malt, après cuisson.

Étant donné qu'une matière première de fraîcheur exceptionnelle a été utilisée pour cet essai, l'évolution des indices de fraîcheur a été considérablement plus lente que lors des essais sur des filets provenant d'espèces débarquées plusieurs jours après la capture. Par conséquent, les comptes bactériens étaient tous sous le seuil de détection (< 2 logs/g) à T2 et T5, et T12 aussi pour les filets traités VM et VMT. Les indices biochimiques se sont aussi révélés très près des seuils de détection (22,7 mgN/100g pour l'ABVT, 0,22 pour l'indice d'oxydation totox, et un pH de 6.37).

À la fin des 12 jours d'entreposage, les dénombrements de psychrotrophes et de mésophiles du contrôle se sont révélés similaires (4,5 et 4,6 logs UFC/g respectivement). En comparaison, les comptes des échantillons traités au vinaigre de malt étaient sous le seuil de détection, indication d'une réduction importante de la charge microbologique ($> 2,5$ logs).

Tableau 8. Comptes bactériens (omble) à T12 après traitements VM et VMT.

	Mésophiles à T12 (log UFC/g)	Psychrotrophes à T12 (log UFC/g)
Contrôle	4,53	4,58
VM	$< 2,3$	$< 2,3$
VMT	$< 2,3$	$< 2,3$

Les indices biochimiques ont été faits à la fin de la période d'entreposage au cours de laquelle l'ABVT n'a pas augmenté. Les indices d'oxydation sont demeurés très faibles et non significativement différents du contrôle, à peine au-delà du seuil mesurable. Le pH plus bas dans les échantillons traités est attribuable à la présence d'acide acétique.

Tableau 9. Indices biochimiques (omble) à T12 après traitements VM et VMT.

	ABVT (mgN/100g)	Totox (2PV+p-AV)	pH
Contrôle	20,02 ^a	5,26 ^a	6,43 ^a
VM	19,16 ^a	7,11 ^a	6,23 ^b
VMT	19,70 ^a	3,39 ^a	6,18 ^b

En conclusion, en raison de l'effet combiné d'une matière première extrêmement fraîche (obtenue vivante) et d'une température de réfrigération à 1-2 °C, la durée de conservation de l'omble a considérablement excédé la période pressentie de 12 jours. L'effet sur les indices biochimiques n'a donc pu être mesuré de manière à déceler des différences, car les indices sont demeurés trop bas sur la durée de l'essai. Sur le plan microbiologique, les deux traitements ont eu un effet antimicrobien de plus de

2 logs/g par rapport au contrôle au jour 12. Néanmoins, l'acidité en bouche, légère mais détectable, et l'impact sur l'apparence de la chair d'omble provoqué par l'hydrolyse de vinaigre de malt sont suffisamment importants pour rejeter le procédé. Ainsi, l'ensemble des essais conduisent à sélectionner l'immersion dans de l'extrait de thé à 0,1 % comme inhibiteur naturel pour l'expérimentation en combinaison avec l'emballage sous atmosphère modifiée.

3. Détermination des paramètres d'emballage sous atmosphère modifiée

Cette étape vise à sélectionner la composition des gaz de l'emballage MAP devant servir à l'essai final de conservation en combinaison avec l'inhibiteur naturel. L'étape de paramétrage du procédé MAP a été accomplie après de multiples essais infructueux pour obtenir de la matière première raisonnablement fraîche dans la catégorie des poissons non gras (morue, plie). Il a finalement été conclu que la conjoncture de pêche accidentelle ne permet pas de miser de manière fiable un approvisionnement régulier en poissons non gras et que par conséquent le besoin de traiter des volumes substantiels et les mettre en marché à l'état frais ne constituait plus un besoin réel pour l'industrie. Les travaux ont ainsi été limités au turbot, davantage disponible aux usines du territoire gaspésien.

En fonction des données disponibles dans la littérature pouvant guider la mise en emballage MAP des poissons, les paramètres ont été élaborés sur la base de ces informations. Ainsi, les essais seront faits en utilisant les combinaisons de gaz suivantes :

Tableau 10. Proportions des différents gaz pour les essais de mise en MAP.

% CO ₂	% O ₂	% N ₂	Ratio produit/gaz	Entreposage
90	0	10	2 : 1	1-2 °C
60	0	40	2 : 1	1-2 °C
50	5	45	2 : 1	1-2 °C

Comme proposé par les publications mentionnées plus haut, un léger présaumurage du poisson (5 minutes dans une solution de NaCl 3 %) a été systématiquement appliqué avant la mise en MAP afin de limiter l'exsudation. Également, la température de conservation a été ajustée à 1-2 °C afin d'amplifier les différences pouvant être trop faibles lors de tests exploratoires.

Procédures

Le turbot de toute première fraîcheur a été débarqué (sur glace) le 3 octobre, puis fileté manuellement le même jour et expédié par autobus en glacière et reçu le lendemain.

La mise en MAP a été réalisée le jour même de la réception du poisson.

Matériel utilisé pour la mise en MAP (photos en annexe 3) :

- Mélangeur De Gaz Witt
- Operculeuse Mecapack S1000
- Barquettes Cryovac CS975 (3,3 X 14 X 19,5 cm) Volume De 830 MI
- Pellicule Flair ESPT 220
- Analyseur De Gaz Checkmate 2 (Dansensor)

Les filets ont été coupés en portions permettant de placer 275 à 290 g afin de respecter le ratio gaz : produit de 2 : 1 généralement recommandé pour le poisson. Le poids a été noté. Le poisson a ensuite été immergé 5 minutes dans une saumure de 3 % NaCl (proportion de 1 kg dans 1,5 L de saumure), retiré et épongé légèrement sur papier absorbant, puis pesé à nouveau.

Les morceaux calibrés ont été disposés dans les barquettes. Celles-ci ont ensuite été remplies d'un des mélanges gazeux (trois mélanges et un contrôle ne contenant que l'air atmosphérique) avant d'être scellées.

Après calibration du mélange de gaz, la composition effective initiale du mélange gazeux a été validée par des mesures d'analyseur de gaz faites sur deux barquettes par mélange.

Tableau 11. Paramètres d'opération du mélangeur de gaz.

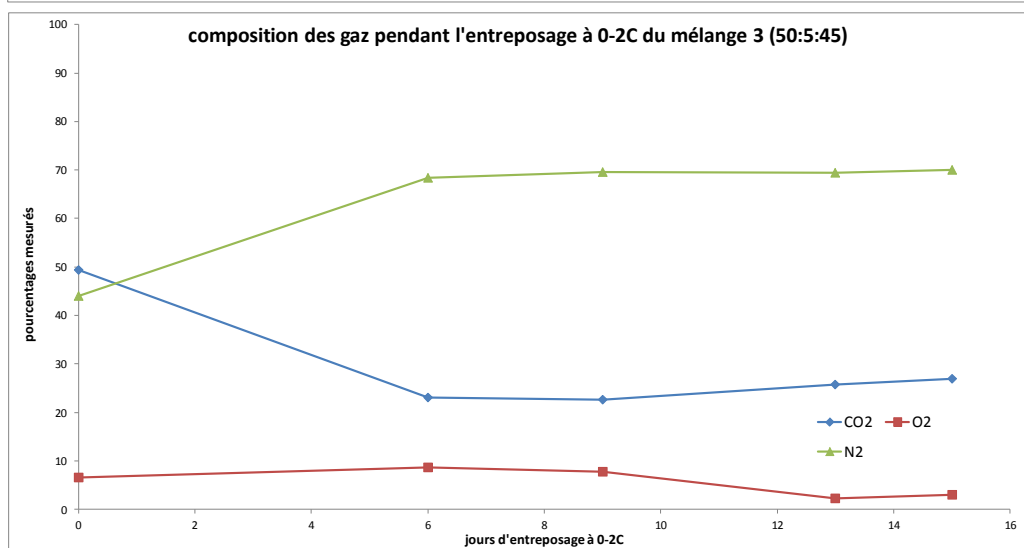
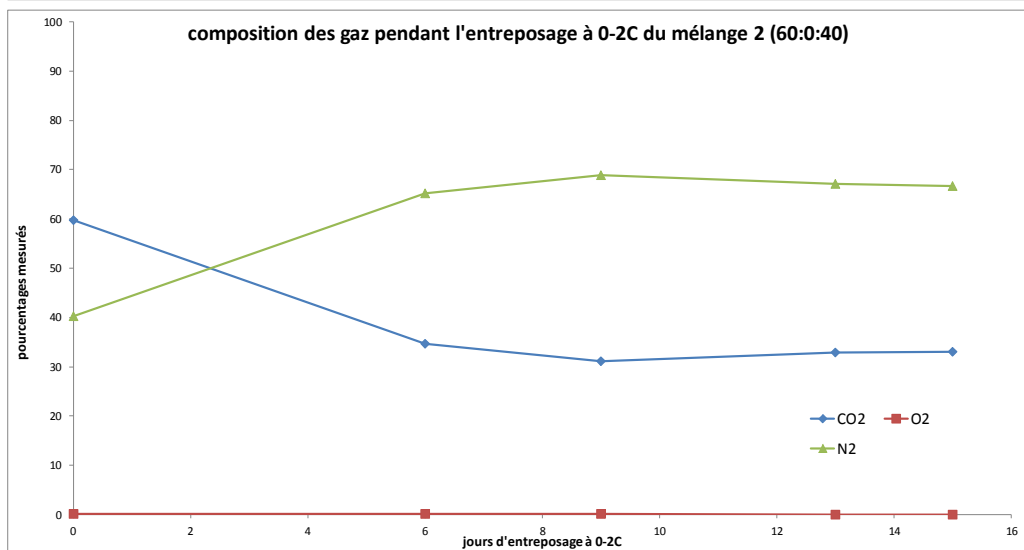
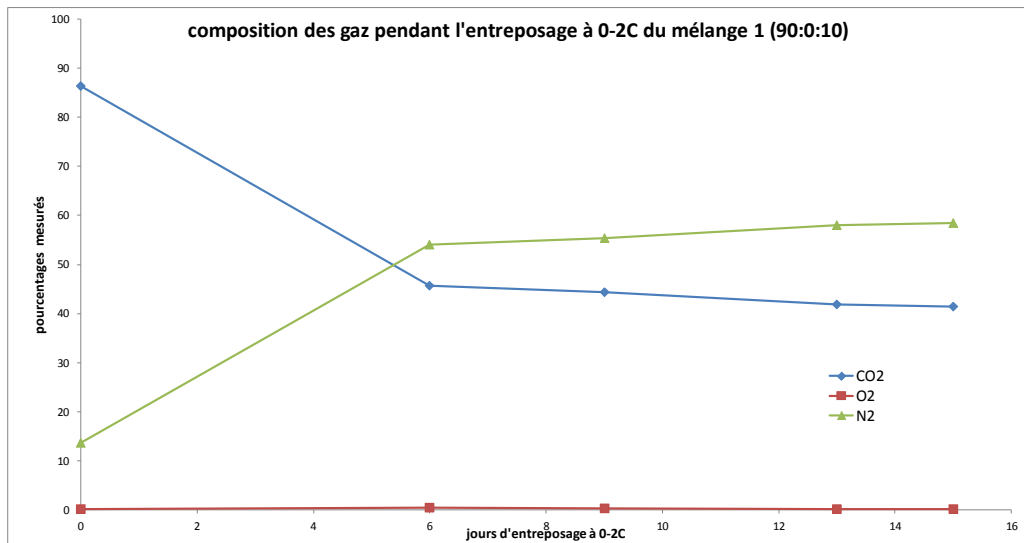
	Mélange gazeux #1		Mélange gazeux #2		Mélange gazeux #3		Mélange gazeux #4 (Contrôle air)
	Visé (%)	Mesuré (%)	Visé (%)	Mesuré (%)	Visé (%)	Mesuré (%)	Mesuré (%)
CO ₂	90	86,3	60	59,7	50	49,4	-
O ₂	0	0,1	0	0,1	5	6,6	-
N ₂	10	13,6	40	40,2	45	44,0	-
Pression		440 mB		800 mB		780 mB	800 mB
Vide		5 mB		5 mB		5 mB	5 mB

Les barquettes scellées ont été entreposées dans une chambre à température contrôlée réglée à 1-2 °C. Aux jours 6, 9, 13 et 15, deux barquettes par traitement ont été retirées pour effectuer les mesures de composition des gaz, les mesures poids, ainsi que l'évaluation sensorielle des filets. Celle-ci a été réalisée par un panel restreint de 4 à 5 personnes ayant une longue habitude des produits marins. Les filets ont été évalués sur l'apparence et l'odeur avant cuisson et sur l'odeur et la saveur après cuisson dans un four à vapeur (68 °C à cœur).

Résultats

Le saumurage léger appliqué avant l'étape d'emballage sous atmosphère modifiée n'a entraîné qu'un faible gain de poids des filets (0,42 à 1,83 %) et n'a eu aucun impact perceptible sur la saveur des filets comme l'ont démontré les prétests.

Comme anticipé, la composition initiale des mélanges gazeux s'est sensiblement modifiée pendant l'entreposage à 0-2 °C. La proportion de CO₂ dans les emballages MAP a rapidement diminué dans les six premiers jours (graphes) en raison de la dissolution de ce gaz dans la chair de poisson, créant un vide partiel dans l'emballage à l'origine d'un creux de surface de la pellicule étanche. Ce déplacement de volume de CO₂ contenu dans l'espace libre des emballages s'est traduit par le fait même en une augmentation de la proportion d'azote, dont la fonction est de servir de remplissage visant à limiter l'affaissement de l'emballage. Le taux d'oxygène dans les mélanges 3 et 4 a diminué en cours d'entreposage, vraisemblablement en raison du métabolisme respiratoire microbien épuisant l'oxygène tout en produisant une quantité faible de CO₂. Il est évidemment demeuré nul dans les mélanges 1 et 2 dont l'oxygène avait été exclu, démontrant l'étanchéité de la pellicule à l'oxygène.



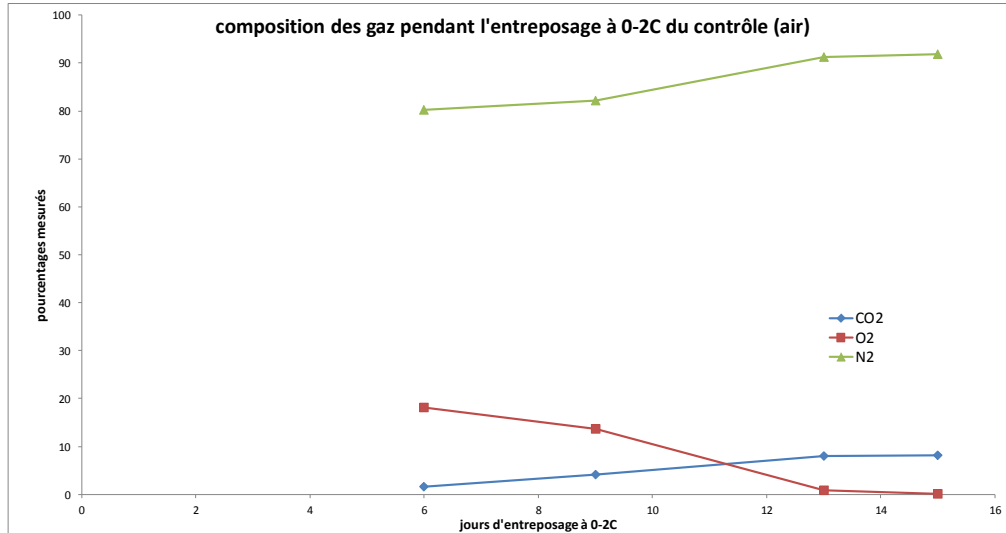


Figure 7. Composition des gaz pendant l'entreposage

En fin d'entreposage, le pH des filets a augmenté dans tous les cas, passant de 6,96 à plus de 7,0 après 13 jours. Toutefois, les valeurs atteintes dans les filets emballés sous MAP étaient inférieures à celle du contrôle avec air, l'effet du MAP a éventuellement atténué la production d'amines par la microflore protéolytique faisant augmenter le pH, tel qu'observé par Debevere & Bouskou (1996) avec la morue.

Tableau 12. pH final des filets de turbot lors de l'essai initial de mise en MAP.

	pH des filets au jour 15
Mélange 1 (90 :0 :10)	7,16
Mélange 2 (60 :0 :40)	7,02
Mélange 3 (50 :5 :45)	7,01
Contrôle (air)	7,37

Des valeurs de pH plus basses auraient pu être observées en raison de la formation d'acide carbonique à partir du CO₂ dissous à l'intérieur des filets. Speranza *et al.* (2009) observent une légère baisse du pH (entre 0,02 et 0,33 selon les espèces) après 14 j à 4 °C en utilisant une atmosphère assez similaire à celle du mélange 1 (95 : 5 de CO₂ : O₂), cette baisse modulant la hausse de pH due à la formation de composés azotés.

La dissolution du CO₂ a également eu comme conséquence anticipée d'abaisser la capacité de rétention d'eau des protéines, entraînant ainsi une perte d'eau des filets par exsudation (figure Perte de poids des filets). L'exsudation a de fait été nettement plus marquée avec le mélange contenant 90 % CO₂ (jusqu'à 13 % du poids initial des filets), et considérablement moindre avec les mélanges contenant 60 % et 55 % CO₂ (respectivement 3 % et 2,5 % du poids), le contrôle avec air n'ayant pour sa part perdu que moins de 0,3 % de son poids. La perte d'eau a donc été plus importante que le gain de poids initial (0,99 ±0,4 %) provenant du saumurage léger pratiqué sur tous les filets. Ce saumurage a contribué à limiter cette perte d'eau, précaution sans laquelle l'exsudation aurait vraisemblablement été plus importante. Dans le cas de l'emballage contenant 90 % CO₂, l'exsudat était très visible dans la barquette et affectait négativement l'apparence du produit. Une lingette absorbante est souvent présente dans les systèmes commerciaux pour capter l'exsudat, mais n'a pas été utilisée ici afin d'observer le comportement des emballages. La perte d'eau n'a pas modifié l'activité de l'eau des filets, la Aw demeurant entre 0,986 et 0,990 pour l'ensemble des traitements.

L'exsudation mesurée en atmosphère à teneur modérée en CO₂ (50 % et 60 % CO₂) a été moins élevée que celle observée par Unalan *et al.* (2011) avec du turbot en MAP à 40 % CO₂, ayant estimé une perte d'eau de 12 % après 23 jours d'entreposage à 2 °C.

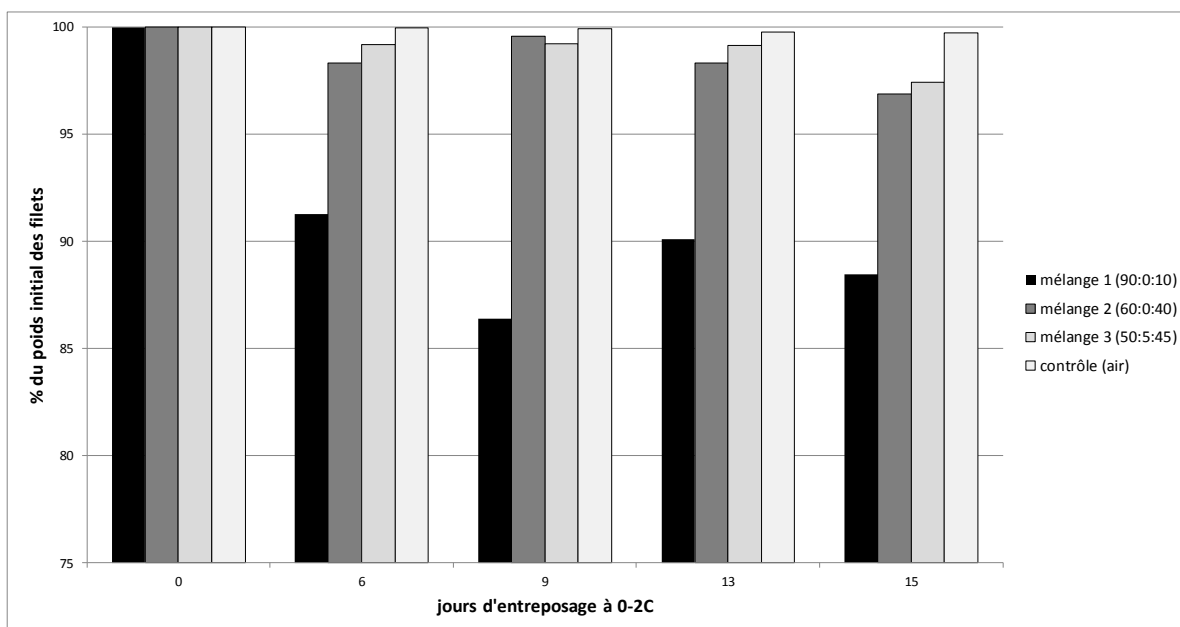


Figure 8. Perte de poids des filets de turbot sous MAP pendant l'entreposage à 1-2 °C.

L'évaluation sensorielle a montré de différences importantes dans l'appréciation des évaluateurs pour les différents filets traités. Les commentaires détaillés ainsi que des photos sont présentés à l'annexe 2. Sommairement, il apparaît que l'emballage du turbot en MAP à 1-2 °C a permis de retarder le processus d'altération des filets par rapport au contrôle emballé en présence d'air. L'odeur des filets sous MAP est demeurée acceptable jusqu'au jour 13 et même 15 dans le cas du mélange 50 : 5 : 45, alors que le contrôle était considéré dégradé dès après le jour 9.

Les évaluateurs ont jugé acceptable la saveur des filets sous MAP jusqu'au jour 13, et ceux conservés avec le mélange 50 : 5 : 45 étaient encore acceptables au jour 15. La couleur s'est transformée de manière notable pendant l'entreposage. L'apparence du contrôle était nettement plus brunâtre après 9 jours d'entreposage alors que les filets sous MAP conservaient leur teinte rosée (photos en annexe 2).

Sur le plan sensoriel, le procédé d'emballage MAP avec mélange de gaz 50 : 5 : 45 a permis d'allonger la conservation du turbot à 1-2 °C jusqu'au jour 15, ce qui représente 5 à 6 jours de plus que le contrôle en présence d'air. Toutefois cette durée de conservation est moindre que les 23 jours obtenus par Unalan *et al.* (2011) sur du turbot conservé à 2 °C sous MAP 40 % CO₂. Celui-ci a utilisé des filets préalablement congelés, entraînant l'inactivation d'une partie de la microflore spécifique d'altération (les *Photobacterium phosphoreum*, producteurs importants de triméthylamine), pouvant expliquer en partie ce délai de plusieurs jours.

4. Mise à l'essai du procédé combinant MAP et inhibiteur

L'emballage sous atmosphère modifiée est retenu comme la meilleure option pour la distribution de poisson en portions. Les expérimentations précédentes ont conduit à sélectionner l'extrait de thé vert comme inhibiteur pour réduire la croissance de la microflore du poisson et atténuer la progression des indices de fraîcheur. La combinaison des deux procédés pourrait ainsi être avantageuse. Cette dernière partie consiste à comparer les paramètres de conservation réfrigérée sur des filets de turbot emballés dans des barquettes avec air (contrôles), sous MAP seul, et sous MAP avec traitement par immersion dans un extrait de thé vert.

Procédures

Approvisionnement en filets de poisson

Il est crucial d'utiliser du turbot d'une fraîcheur irréprochable pour cet essai. Le turbot a été pêché début mai et transformé le même jour en filets sans peau de calibre 4-8 (110-220 g) dans une usine de la Gaspésie. À noter que lors de la transformation en usine, les filets ont été brièvement mis en contact avec de l'eau de mer et non de l'eau douce, ce qui peut faire varier légèrement le taux de sel initial. Les filets (18 kg) ont été placés dans des glacières disposées en bacs isothermes puis livrés au laboratoire de Gaspé pendant l'après-midi. Les filets ont été transportés le matin du 2 mai aux installations de Grande-Rivière où se trouvent les installations d'emballage MAP.

Traitement et mise en MAP

Le traitement des filets a été effectué le lendemain de leur réception à Gaspé. La première étape consistait à appliquer le saumurage léger, ainsi que l'immersion dans la solution d'extrait de thé vert.

- Saumure légère 3 % (pour traitements Contrôle et MAP) : 540 g de sel de table a été dissous dans 18 L d'eau du robinet réfrigérée dans un grand bac et 12 kg de filets ont été immergés dans la solution pendant 5 minutes, puis retirés et égouttés brièvement dans des paniers. Les filets ont été découpés à la main en portions de 270-290 g disposées dans des barquettes numérotées et pesées individuellement avant l'emballage.
- Traitement à l'extrait de thé/saumure : 8 g d'extrait de thé vert Oxyphyte Green Tea a été dissous dans 8 L avec de l'eau du robinet réfrigérée et 5 kg de filets ont été immergés dans la solution pendant 55 minutes. Après ce premier trempage, les filets ont été retirés et 240 g de sel de table a été ajouté à la solution et dissous. Les filets ont été replacés dans la solution pour 5 minutes puis retirés et égouttés brièvement dans des paniers. Les filets ont été découpés à la main en portions de 270-290 g disposées dans des barquettes numérotées et pesées individuellement avant l'emballage.

L'emballage MAP s'est déroulé le même jour que les traitements d'immersion. L'équipement utilisé est :

- Mélangeur de gaz Witt KM100-3MEM
- Operculeuse Mecapack S1000
- Barquettes Cryovac CS975 (3,3 x 14 x 19,5 cm) volume de 830 ml
- Pellicule laminée Flair ESPT 220
- Analyseur de gaz Checkmate 2 (Dansensor)

Les réglages du mélange de gaz ont été appliqués suite aux prétests de l'automne 2017 qui avaient conduit aux meilleurs résultats avec le turbot :

Paramètres	Contrôle air	MAP
Air atmosphérique	100 %	-
CO ₂	-	50 %
O ₂	-	5 %
N ₂	-	45 %
Pression	800 mB	800 mB
Vide	5 mB	5 mB
Ratio gaz/produit	2 : 1	2 : 1

Les barquettes après remplissage ont été transportées en glacières dans les laboratoires de Gaspé pour entreposage à 2-4 °C pendant 14 jours et étiquetées :

- CONT : contrôle avec air sans MAP
- MAP : saumurage léger suivi de l'emballage MAP
- MAP+T : traitement à l'extrait de thé + saumurage, suivi de l'emballage MAP

Une barquette de filets sous MAP a été réservée pour des mesures de gaz rapprochées sur une période de 24 heures à 2-4 °C. Enfin, deux barquettes MAP ont été entreposées à -18 °C afin d'observer plus tard leur comportement en termes de gaz et de perte d'eau après congélation/décongélation.

Prélèvements

Les prélèvements ont été faits sur la matière première à la réception pour analyses biochimiques et microbiologiques, puis sur les filets en MAP après 5, 8, 12 et 14 jours d'entreposage pour l'ensemble des paramètres analytiques. Chaque jour de prélèvements, trois barquettes ont été retirées pour les analyses de microbiologie et de chimie et une barquette pour l'évaluation sensorielle et les mesures d'exsudats.

Méthodes analytiques

Évaluations sensorielles

Des panélistes initiés, mais non entraînés, ont été réunis pour se familiariser avec la terminologie reliée à la couleur, à l'odeur, au goût et à la texture, ainsi qu'avec le formulaire hédonique à neuf niveaux utilisé pour évaluer la chair cuite de turbot.

Une barquette de chacun des traitements (air, MAP et MAP+T) a été prélevée aux jours 5, 8, 12 et 14 pour les analyses sensorielles. La mesure de composition des gaz a été effectuée avant l'ouverture des barquettes destinées aux analyses. L'apparence des filets crus a été notée après ouverture des barquettes : couleur de la chair, couleur des lignes de gras, luisance, anomalies.

Pour chaque évaluation, les filets ont d'abord été examinés à l'état cru pour les critères d'apparence générale, de couleur et d'odeur. Après le prélèvement de l'exsudat, les filets ont été cuits immédiatement ou conservés à 0-4 °C jusqu'à la cuisson. Les filets d'une même barquette et d'un même traitement ont été cuits en couche simple sur une grille perforée dans un cuiseur à vapeur saturée Vulcan VSX 9000 jusqu'à une température à cœur de 70 °C. La température était mesurée en continu à l'aide d'un fil de thermocouple de type T reliée à un thermomètre digital Oakton Temp10T. Les filets ont été tempérés pour le montage des assiettes ou réchauffés aux micro-ondes lorsque nécessaire (45-50 °C).

Les morceaux de filet, identifiés avec un code, ont été présentés aux panélistes en isoloir. Les cotes moyennes de chaque critère ont été compilées pour suivre l'évolution des échantillons durant l'entreposage. Pour cette évaluation hédonique, le protocole ne prévoit pas de valeur limite ou « cut-off point » pour justifier le rejet d'un échantillon. Puisque les limites inférieures et supérieures de l'échelle à

neuf niveaux sont rarement utilisées, une cote de 3 et surtout de 2, indique une réelle aversion de l'échantillon.

Enfin, des mesures de gaz ont été faites après décongélation sur les deux barquettes MAP gardées congelées pendant les 14 jours.

Analyses microbiologiques

Matière première :

Trois échantillons de 50 g ont été prélevés sur la matière première reçue (filets), pour effectuer le dénombrement des psychrotrophes, des bactéries lactiques et des bactéries productrices de H₂S (H₂S+).

Aux T5, T8, T12, T14 :

À chaque T, trois barquettes de chacun des traitements et du contrôle ont été retirées, et 50 g de chaque échantillon prélevé pour analyses microbiologiques, le reste du contenu des barquettes servant aux analyses biochimiques. Les analyses faites sont les mêmes que sur la matière première, et le dénombrement des sporulants aérobies et anaérobies a été fait au jour 14.

Analyses biochimiques

Matière première :

Trois échantillons (filets) ont été prélevés pour analyses sur la matière première reçue. À chaque intervalle d'entreposage (5, 8, 12 et 14 jours), des mesures de pH, ABVT, TMA, indice d'oxydation totox ont été faites.

Résultats

Le présaumurage léger de cinq minutes dans la solution de sel 3 % et de sel 3 % avec extrait de thé vert a entraîné un gain de poids de 2,8 % et 3,4 % respectivement. Le taux de sel dans la chair du turbot demeure faible (0,37 % dans la matière première, et 0,56 % dans les filets une fois traités) en dépit de cette étape de saumurage et du contact avec de l'eau de mer pendant la transformation à l'usine.

En cours d'entreposage, l'exsudat, nettement plus abondant avec les filets sous MAP, était visible dans le fond de la barquette et pourrait causer un problème d'apparence. Un tampon absorbant tapissant le fond serait nécessaire pour absorber ce liquide. L'emballage MAP entraîne ainsi une perte de poids substantielle des filets qui augmente avec le temps, alors que la perte dans contrôle est faible et ne varie pas dans le temps :

	Perte de poids
Contrôle avec air	0,9 à 2,5 %
MAP à T5	2,9 %
MAP à T14	4,0 à 4,9 %
MAP+T à T5	1,4 à 3,8 %
MAP+T à T14	8,0 à 8,7 %

Les mesures de gaz faites sur les emballages MAP confirment la dissolution rapide du CO₂ dans la chair dans les premières 24 heures (figures), passant de 50 % à 30 % dans la zone d'atmosphère. Une partie du CO₂ étant dissoute dans la chair, la proportion d'azote s'en trouve augmentée comme l'indiquent les mesures de gaz. Ce déplacement du CO₂ entraîne un vide partiel dans l'emballage, créant un certain affaissement de la surface de la pellicule, plutôt bombée vers l'extérieur au moment du remplissage (photo). Un ratio gaz/produit plus élevé que 2 : 1 pourrait atténuer ce phénomène. Cet affaissement ne s'est pas produit dans les barquettes avec air (sans MAP).



Photo 12. Affaissement de la pellicule de l'emballage MAP.

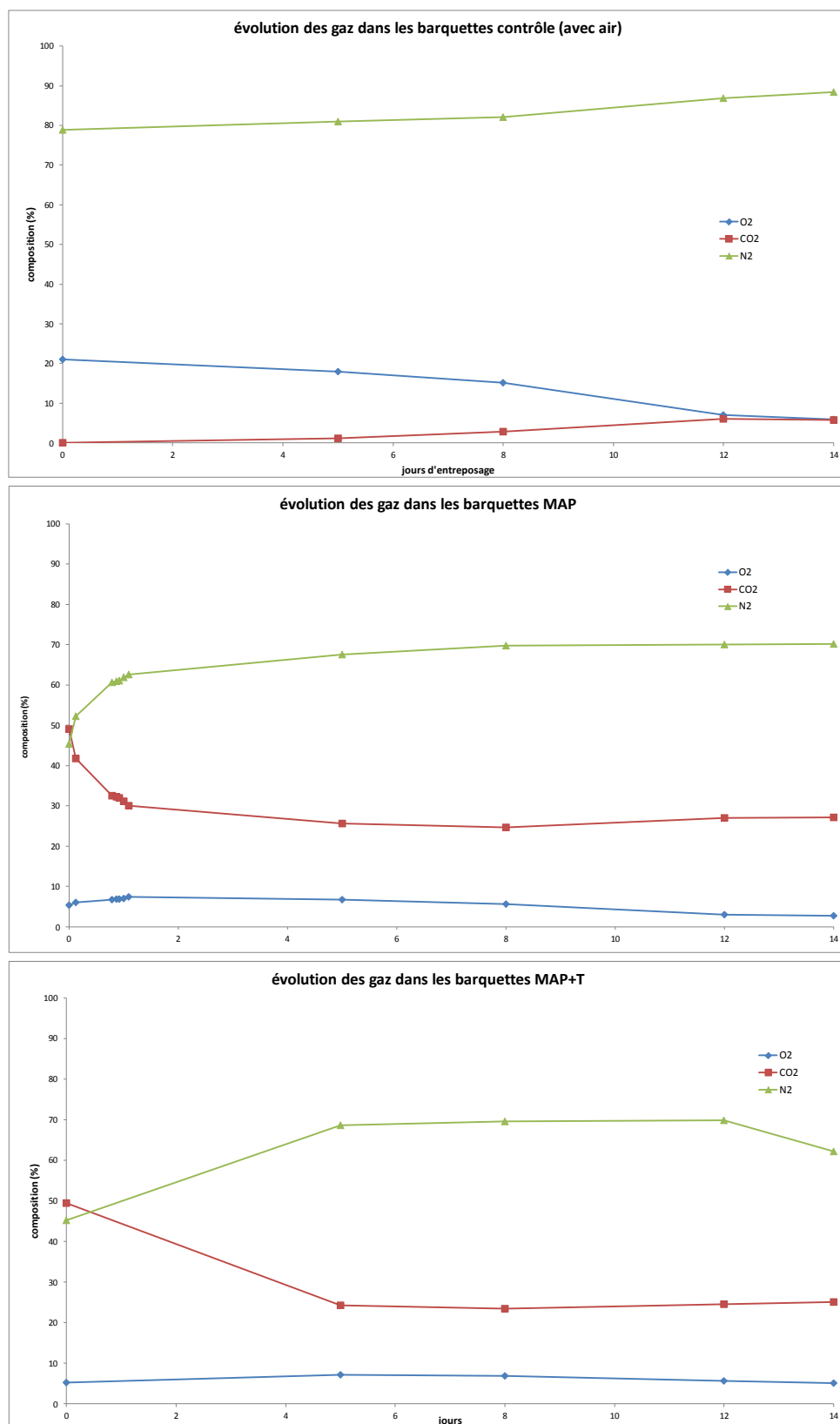


Figure 9. Évolution de la composition des gaz pendant l'entreposage lors de l'essai initial sur le turbot.

La stabilisation du mélange gazeux est donc atteinte dans les premiers jours d'entreposage, tel qu'observé par Santos *et al.* (2013) avec du turbot emballé sous MAP avec un mélange gazeux similaire à celui utilisé ici.

Analyses sensorielles

L'apparence des filets de turbot n'a pas été modifiée de façon importante par l'emballage sous MAP (photo 13). La surface des filets sous MAP est visiblement plus luisante que celle du contrôle plutôt mate.



Photo 13. Filets avec air et sous MAP après 12 jours de conservation.

Sous MAP, une démarcation était parfois visible après 14 jours aux endroits où une partie de filet recouvrait un autre filet, indiquant qu'une légère modification de coloration s'était produite par contact avec les gaz ambiants (photo 14).



Photo 14. Démarcation de contact de deux filets sous MAP.

Les observations sensorielles sur les filets crus obtenues lors de l'entreposage sont présentées à l'annexe 6. En résumé, l'odeur des filets à l'ouverture des barquettes est beaucoup plus agréable dans les emballages MAP. Le MPA+T conserve même une odeur de poisson frais jusqu'au jour 14. La couleur tend à devenir légèrement jaune verdâtre dans le contrôle, alors que le MAP+T conserve une teinte blanc crème légèrement rosée.

Après cuisson :

Les filets après cuisson ont une apparence tout à fait acceptable. Toutefois on note une différence de teinte en fin d'entreposage dans le cas du traitement avec extrait de thé, plus proche du blanc rosâtre, alors que les filets MAP, et les filets contrôles davantage, avaient acquis une teinte légèrement jaune et même verdâtre sur la face externe (photo 15).

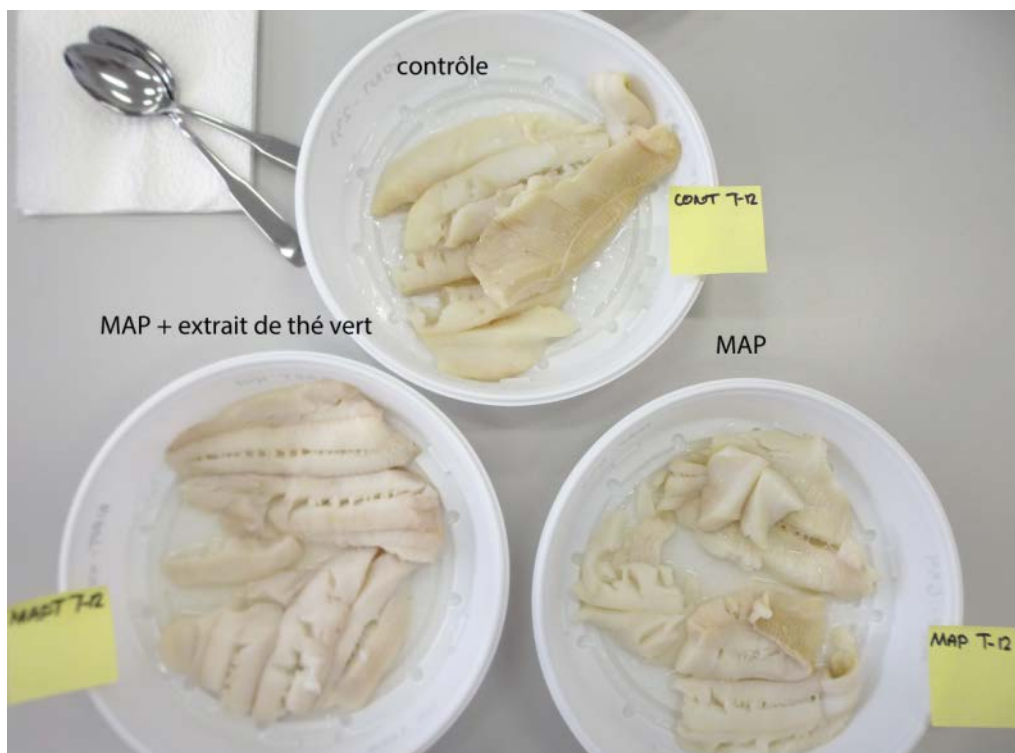


Photo 15. Filets avec air, sous MAP et extrait de thé après 12 jours d'entreposage et après cuisson.

Les filets sous MAP+T conservent une bonne cote d'appréciation pour les critères de couleur, d'odeur et de goût tout au long des 12 premiers jours d'entreposage. Par contre, la texture du produit MAP+T varie significativement alors qu'elle est remarquablement stable pour les échantillons de contrôle et le MAP. Les échantillons de contrôle sont à la limite de l'acceptabilité à T12 tandis que le MAP et le MAP+T sont encore bien appréciés. Seul le produit MAP+T a été jugé acceptable pour une évaluation à T14.

T5 :

Déjà, à la première évaluation par les panélistes, les échantillons de contrôle sont moins appréciés pour les critères d'odeur et de texture. Deux panélistes sur cinq donnent d'ailleurs une cote « négative » au critère de texture. Le critère important du goût est similaire pour tous les échantillons. Le MAP se distingue cependant avec 3 cotes à l'échelon 9 (sur l'échelle 1 à 9), les panélistes l'associant davantage au poisson frais. Parmi les commentaires généraux, les panélistes notent que le MAP et le MAP+T laissent de l'eau dans l'assiette.

T8 :

Le critère de l'odeur pour les échantillons de contrôle, et du MAP particulièrement, est définitivement moins apprécié qu'à T5, alors que l'appréciation de ce critère fluctue à peine dans le cas de MAP+T. Les panélistes commentent la baisse d'appréciation en décrivant une odeur plus forte de poisson, sans nécessairement identifier de signes d'altération. Les échantillons MAP+T sont moins appréciés pour le critère de la couleur à cause de zones brunes ou brunâtres du côté « peau » du filet (la partie contre la barquette et non exposée à la lumière).

Tous les échantillons connaissent une baisse d'appréciation pour le critère de goût. Le plus remarquable changement survient toutefois avec le produit MAP qui présente une cote moyenne sous la barre médiane de 5. Deux panélistes sur cinq lui ont même attribué une cote de 2, ce qui pourrait éventuellement justifier un déclassement du produit. Cette aversion semble provenir d'un arrière-goût amer et métallique qui reste en bouche. L'appréciation de la texture des échantillons MAP+T diminue également beaucoup par rapport à T5. Les panélistes mentionnent le manque de structure de la chair, des flocons sans résistance sous la dent et une texture qui ne se prolongent pas en bouche.

T12 :

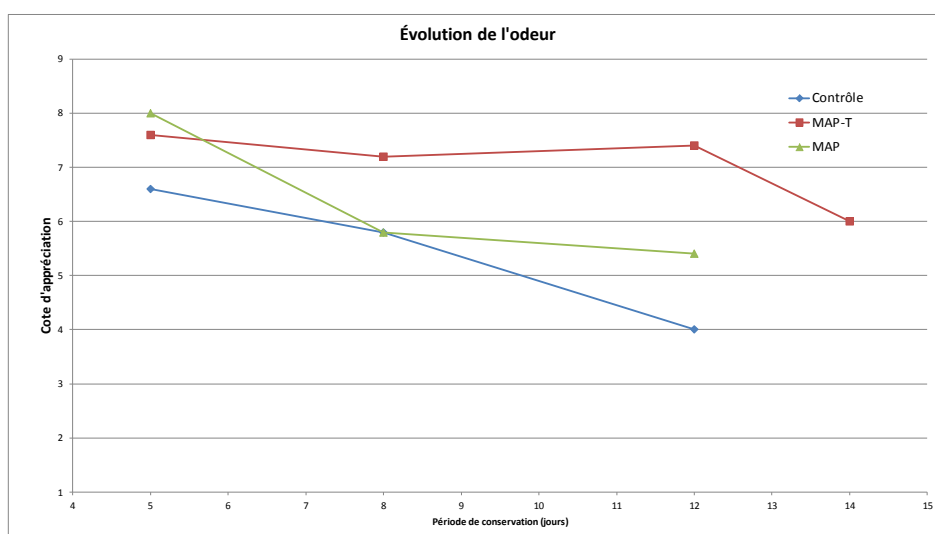
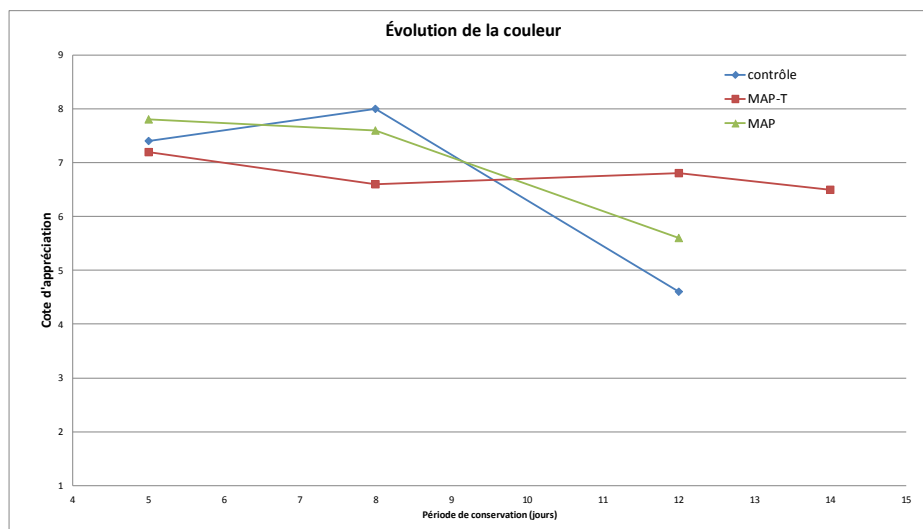
Avec une cote moyenne sous la barre de l'échelon 5 pour trois des quatre critères, les échantillons de contrôle se trouvent près de la limite d'acceptabilité. Les panélistes notent l'apparition de plusieurs taches jaunâtres, verdâtres ou même brunâtres. On note également des indices d'altération de l'odeur décrits par les termes de feuillages et de lait suri. La cote moyenne de 4,2 est la plus faible rencontrée dans cet essai pour le critère de goût. L'appréciation des échantillons MAP+T est similaire à T8 considérant même une amélioration du critère de texture. Les panélistes notent toujours l'aspect floconneux, mais apparemment plus ferme qu'à T8.

Toujours en comparaison à T8, l'appréciation des échantillons MAP diminue pour la couleur, dû à l'apparition de taches jaunes sur la chair et de lignes brunes sur les myoseptes. Mais de façon un peu surprenante, l'appréciation augmente significativement pour le critère de goût.

T14 :

Les échantillons MAP+T, les seuls retenus pour l'évaluation à T14, sont moins appréciés qu'à T12 pour les critères d'odeur, de texture et de goût. La couleur demeure relativement stable et les panélistes ne dénotent aucune décoloration. Seule la cote moyenne du critère de la texture se retrouve sous la barre médiane de 5. Deux panélistes sur quatre décèlent un aspect gélatineux. Le critère de goût semble toujours acceptable.

Les figures suivantes décrivent les cotes d'appréciation de la couleur, du goût, de l'odeur et de la texture, établies par les évaluateurs sur les filets après cuisson.



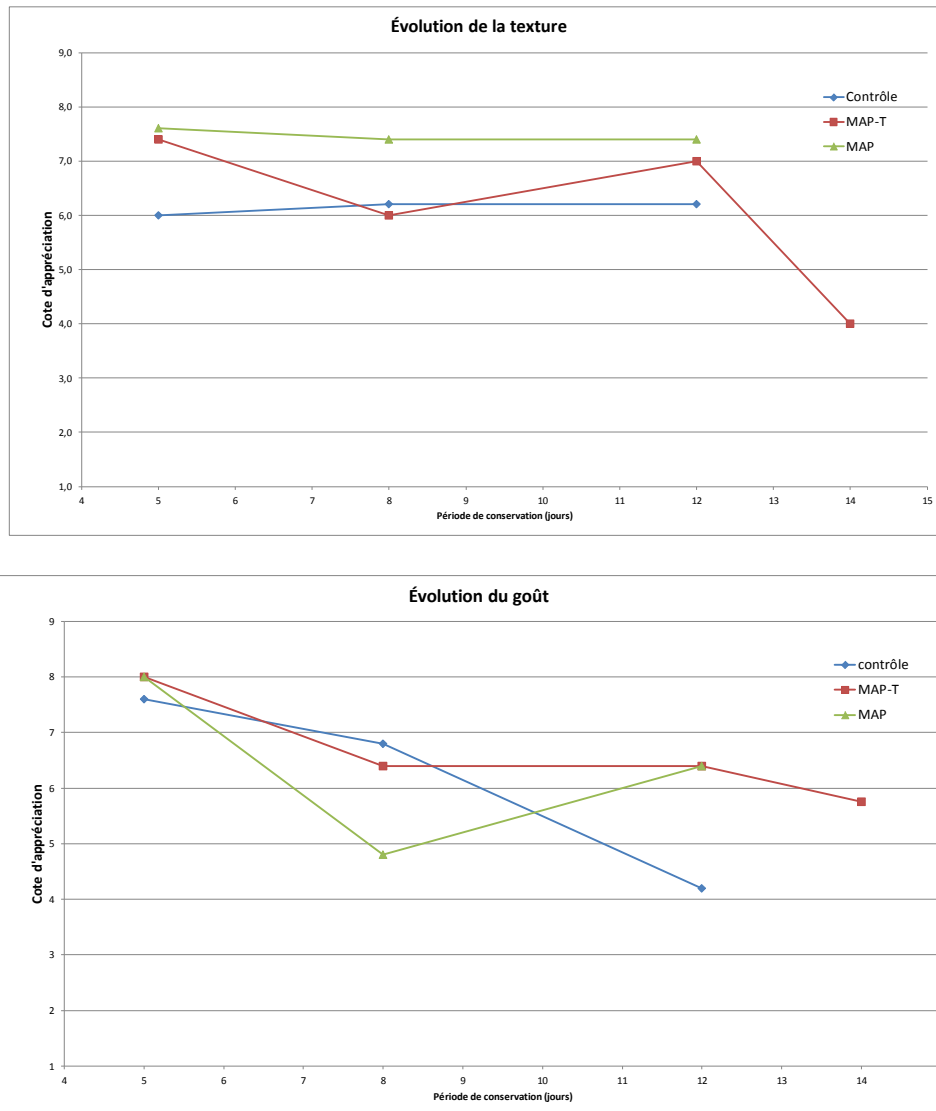


Figure 10. Cotes d'appréciation sensorielle des filets de turbot après cuisson.

Globalement, sur la base de l'évaluation sensorielle, les cotes d'appréciation des échantillons de contrôle suivent un profil de détérioration normal (tableau 13). Avec un état de fraîcheur irréprochable à T0, le produit conserve une bonne qualité pour au moins 8 jours. Si ce n'est du critère de goût, le produit MAP suit aussi un profil attendu, et donc une performance globale légèrement meilleure que le contrôle. L'appréciation du goût à T8 reste énigmatique. En effet à T5, alors que tous les échantillons sont encore très frais, les panélistes semblent apprécier les produits tout en décrivant des sensations plutôt retenues comme « peu prononcé », « délicat », « impossible à décrire » ou « ressemble à du poisson frais ». À T8, avec des échantillons qui dégagent des caractères mieux perceptibles pour la première fois, les panélistes ont pu réagir négativement à un défaut comme l'amertume ou le goût métallique. Les meilleurs résultats à T12 pourraient exprimer une réelle amélioration de la perception du produit ou un réajustement de l'échelle de perception de quelques panélistes.

Dans les conditions de l'expérimentation, on peut estimer une conservation de 12 jours pour le produit MAP. Le produit MAP+T performe définitivement mieux que les autres pour le critère de l'odeur. De tous les échantillons, le goût MAP+T est également mieux coté sur une plus longue période. La texture du produit MAP+T mériterait quelques investigations supplémentaires. Le manque de résistance en bouche

a été clairement observé par les panélistes. La tendance indique que le produit réfrigéré ne dépasserait pas beaucoup 14 jours de conservation.

Tableau 13. Cotation des panélistes

		Cotes moyennes (écart-type)			
		Couleur	Odeur	Texture	Goût
T5					
Contrôle		7,4	6,6	6,0	7,6
		(0,9)	(1,7)	(2,3)	(0,5)
MAP-T		7,2	7,6	7,4	8,0
		(1,6)	(0,5)	(1,1)	(0,7)
MAP		7,8	8,0	7,6	8,0
		(1,3)	(0,7)	(2,1)	(1,4)
T8					
Contrôle		8,0	5,8	6,2	6,8
		(0,7)	(1,8)	(1,5)	(1,6)
MAP-T		6,6	7,2	6,0	6,4
		(1,7)	(1,1)	(2,4)	(1,8)
MAP		7,6	5,8	7,4	4,8
		(1,1)	(1,9)	(0,5)	(2,7)
T12					
Contrôle		4,6	4,0	6,2	4,2
		(0,9)	(2,3)	(2,2)	(2,4)
MAP-T		6,8	7,4	7,0	6,4
		(1,8)	(0,9)	(0,7)	(2,5)
MAP		5,6	5,4	7,4	6,4
		(2,1)	(2,4)	(1,1)	(1,7)
T14					
MAP-T		6,5	6,0	4,0	5,8
		(1,7)	(1,6)	(1,4)	(2,6)

L'acceptabilité de filets de turbot sur une période de 12 jours (MAP) et 14 jours (MAP+T) correspond d'assez près à la durée de 15 jours mentionnée par Santos *et al.* (2013) avec une autre espèce de turbot (*Psetta maxima*) emballée sous MAP avec 40 à 60 % CO₂.

Analyses microbiologiques

Le procédé d'emballage MAP a significativement atténué la croissance des bactéries psychrotrophes, des bactéries lactiques et des bactéries H₂S+ pendant les 14 jours d'entreposage réfrigéré (tableau 14).

Tableau 14. Comptes bactériens mesurés au cours de l'entreposage réfrigéré (lettres différentes dans les colonnes indiquent une différence significative entre les traitements (ANOVA, $p < 0.05$)).

	Traitements	Jours d'entreposage				
		0	5	8	12	14
Psychrotrophes	Air	< 2	6,63 ^a	8,45 ^a	8,76 ^a	8,99 ^a
	MAP	< 2	6,34 ^a	7,66 ^a	7,91 ^b	8,10 ^b
	MAP+T	< 2	5,64 ^b	6,75 ^b	7,78 ^b	7,98 ^b
Lactiques	air	< 2	2,33 ^a	4,60 ^a	6,99 ^a	7,59 ^a
	MAP	< 2	2,00 ^a	2,50 ^b	3,39 ^b	4,74 ^b
	MAP+T	< 2	3,61 ^b	4,11 ^a	5,29 ^c	5,65 ^c
H ₂ S+	Air	< 2	2,70 ^a	3,91 ^a	7,01 ^a	7,41 ^a
	MAP	< 2	2,10 ^b	3,66 ^a	4,29 ^b	4,86 ^b
	MAP+T	< 2	2,10 ^b	2,55 ^b	3,75 ^c	4,21 ^b

La microflore psychrotrophe (généralement dominée dans les poissons sous MAP par les bactéries *Photobacterium phosphoreum* très résistantes au CO₂), a été modérément affectée par l'atmosphère riche en CO₂. Tous les filets sous MAP avaient un compte psychrotrophe significativement inférieur d'environ 1 log à ceux du contrôle avec air. Le traitement à l'extrait de thé a entraîné une inhibition supplémentaire de cette microflore jusqu'au jour 8. Par la suite il n'y a plus de différence significative entre les filets MAP et ceux traités à l'extrait de thé (figure 11). En se basant uniquement sur la valeur limite de comptes aérobies de 7 logs UFC/g proposée par l'ICMSF (1986), la conservation des filets contrôles et sous MAP seule serait limitée à 5 et 6 jours, et celle des filets avec extrait de thé à 9 jours.

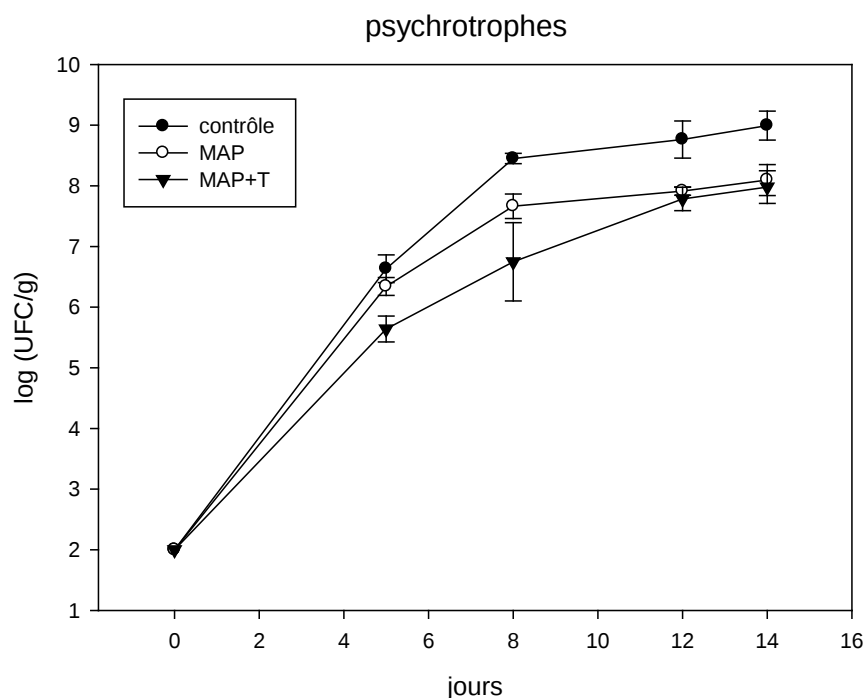


Figure 11. Évolution des bactéries psychrotrophes dans le turbot avec air et en MAP.

Les bactéries productrices de H₂S ont quant à elles été inhibées de façon importante par l'emballage MAP (figure 12). Les comptes étaient de l'ordre de 4 logs/g dans les filets traités sous MAP au jour 14, ce qui est insuffisant pour entraîner une altération importante. En comparaison, les filets contrôles avec air hébergeaient plus de 7,5 log/g de bactéries H₂S+. On note aussi que les évaluateurs ont détecté dans les filets contrôles en fin d'entreposage l'odeur d'œufs dégradés associée au H₂S, ce qui est compréhensible, car le compte de bactéries H₂S+ atteignait plus de 7 logs/g. Le traitement à l'extrait de thé a significativement contribué à inhiber davantage les H₂S+ aux jours 8 et 12 que le MAP seul. Au jour 14, la différence est non significative en raison d'une variance élevée.

Ces observations vont dans le sens d'autres résultats publiés. Il est documenté que ce groupe bactérien est fortement impliqué dans le processus d'altération du poisson exposé à l'oxygène. Les bactéries H₂S+, dominées par l'espèce *Shewanella putrefasciens* sont toutefois partiellement inhibées par les taux élevés de CO₂ et leur croissance dans les emballages MAP s'en trouve limitée (Gram *et al.*, 1987; Dalgaard, 1995).

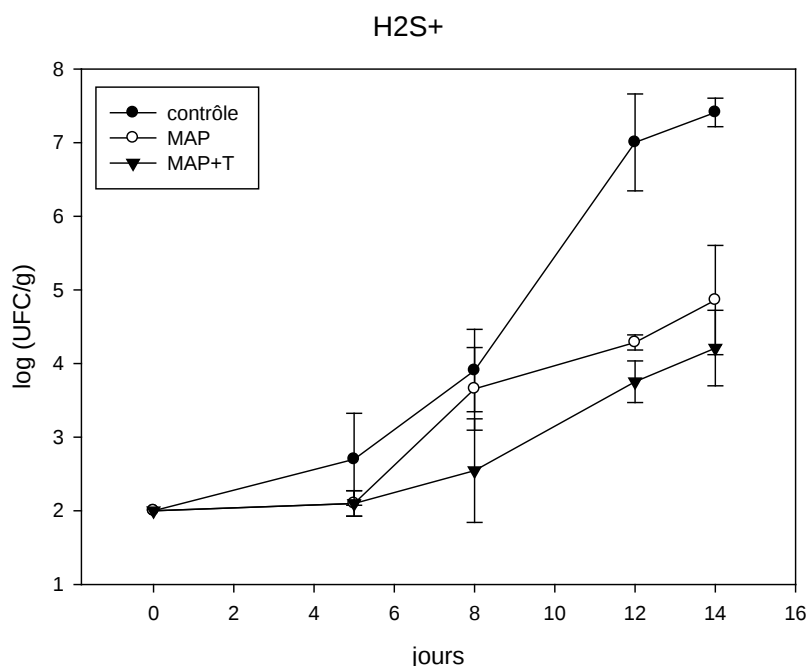


Figure 12. Évolution des bactéries H₂S+ dans le turbot avec air et en MAP.

La croissance des bactéries lactiques s'est révélée rapide dans les filets emballés avec air, pour atteindre 7,5 logs/g au jour 14. L'emballage sous MAP a clairement allongé la période de latence et ralenti cette croissance (figure 13). Les bactéries lactiques étant sous le seuil de détection dans la matière première, il est intéressant d'observer qu'au jour 5, les bactéries lactiques dans le turbot sous MAP traité à l'extrait de thé vert ont été beaucoup plus nombreuses que dans les filets contrôles avec air et que ceux sous MAP sans extrait. Il a d'abord été soupçonné, bien qu'improbable, un apport de lactique par la poudre d'extrait de thé. On trouve dans la fiche technique du Oxyphyte les résultats de tests microbiologiques faits par le fabricant (compte aérobie < 3 logs/g; levures et moisissures < 2 logs/g; coliformes < 1 log/g), mais ils n'incluent pas les bactéries lactiques. C'est pourquoi un dénombrement a été fait directement dans la poudre d'extrait de thé, qui n'a révélé aucune cellule détectable de bactéries lactiques ni de H₂S+. Après quelques jours, le taux de croissance des bactéries lactiques s'est trouvé ralenti par une possible compétition des autres groupes bactériens, dont les H₂S+. La croissance des bactéries lactiques (5,6 logs/g au jour 14) dans les filets avec extrait de thé n'a toutefois pas entraîné d'altération de la qualité du turbot, comme le démontre l'évaluation sensorielle sur les échantillons traités, ni de baisse de pH plus marquée que celle des filets avec le MAP seul. Éventuellement, des bactéries lactiques à faible

potentiel d'altération ont pu entrer en compétition avec les autres bactéries d'altération et au final constituer un avantage en termes de qualité. En effet, Joffraud *et al.* (2006) ont observé dans le saumon fumé que l'inoculation d'une souche lactique (*Lb sakei*) interagit avec les *Photobacterium* et les *Brochothrix*, partiellement inhibés pendant l'entreposage sous vide.

L'occurrence de bactéries lactiques dans les poudres sèches est peu documentée. Sade *et al.* (2016) mesurent des concentrations de plus de 2 logs UFC/g de lactiques dans la majorité des échantillons d'épices analysées. Des comptes atteignant 6,6 logs ont été mesurés dans certains échantillons. Klebukowska *et al.* (2015) ont obtenu des dénombrements de l'ordre de 2,3-5,5 log UFC/g dans des échantillons d'ail séché en poudre. D'autre part on ne trouve que très peu de données sur l'effet de l'extrait de thé vert sur les bactéries lactiques. Une inhibition des lactiques est constatée par Lorenzo *et al.* (2014) dans la viande de porc avec extrait de thé vert, alors que Neffe-Skocinska *et al.* (2015) observent que l'extrait n'a pas d'impact négatif sur la croissance des bactéries lactiques dans cette même matrice. Finalement, bien que les données présentées ici soient insuffisantes pour soutenir cette hypothèse, l'extrait de thé ajouté aux filets pourrait avoir apporté un facteur de croissance stimulant le développement de bactéries lactiques. En effet, quelques publications montrent que les polyphénols de thé vert peuvent stimuler certains groupes de bactéries lactiques dans le yogourt (Jeong *et al.*, 2018) et l'ensilage (Bureenok *et al.*, 2007). En somme, la cause de l'augmentation des bactéries lactiques en présence d'extrait de thé vert dans les échantillons reste à élucider.

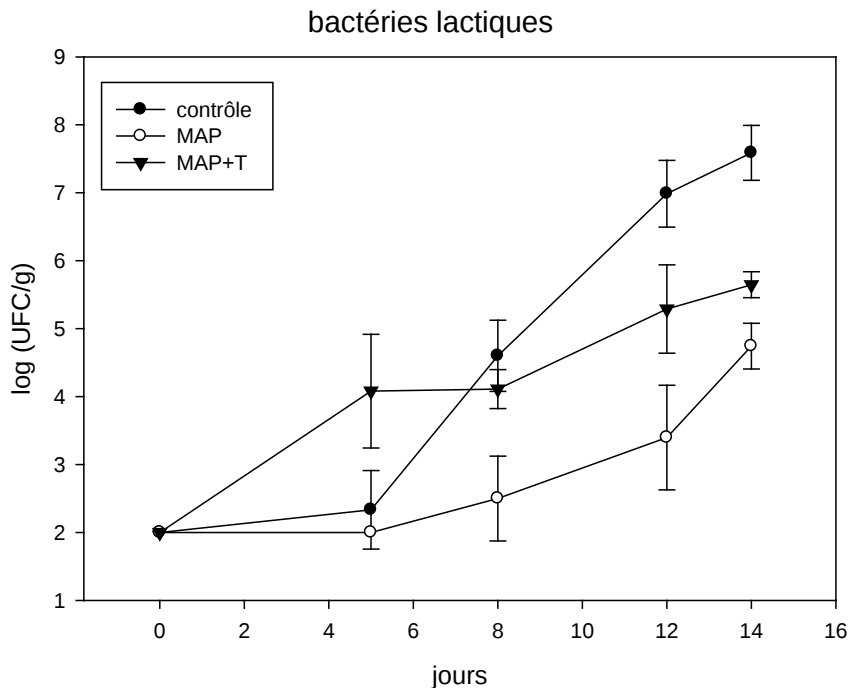


Figure 13. Évolution des bactéries lactiques dans le turbot avec air et en MAP.

Enfin, les analyses faites au jour 14 n'ont révélé la croissance d'aucune bactérie sporulante aérobie ou anaérobie dans l'ensemble des échantillons sous MAP.

Analyses biochimiques

Les traitements sous MAP ont significativement contribué à limiter la progression des indices biochimiques d'altération pendant l'entreposage réfrigéré en comparaison avec le contrôle en barquettes avec air (tableau 15).

Tableau 15. Indices biochimiques mesurés au cours de l'entreposage réfrigéré (lettres différentes dans les colonnes indiquent une différence significative entre les traitements (ANOVA, $p < 0.05$)).

		Jours d'entreposage				
	Traitements	0	5	8	12	14
ABVT	Air	8,46	9,76 ^a	37,45 ^a	74,10 ^a	76,03 ^a
	MAP	8,46	9,16 ^a	16,18 ^b	36,87 ^b	41,43 ^b
	MAP+T	8,46	8,02 ^a	8,92 ^c	24,72 ^b	29,27 ^b
TMA	Air	0,15	1,14 ^a	24,41 ^a	49,62 ^a	63,33 ^a
	MAP	0,15	0,83 ^a	6,74 ^b	21,24 ^b	33,76 ^a
	MAP+T	0,15	0,17 ^a	0,82 ^c	14,87 ^b	20,88 ^b
pH	Air	7,26	7,18 ^a	7,3 ^a	7,37 ^a	7,47 ^a
	MAP	7,26	6,82 ^b	6,98 ^b	7,01 ^b	7,04 ^b
	MAP+T	7,26	6,88 ^b	6,97 ^b	6,89 ^b	7,02 ^b

La dégradation des protéines a été rapide dans les filets de turbot avec air. L'ABVT et le TMA ont augmenté fortement entre les jours 5 et 8, alors que les valeurs de ces deux indicateurs étaient clairement moindres dans les filets sous MAP et avec l'extrait de thé (figures 14 et 15), et ce, jusqu'à la fin de l'entreposage. La différence assez faible observée entre les traitements MAP avec et sans thé vert n'est toutefois pas significative, sauf aux jours 5 et 14 pour le TMA. À titre indicatif, l'AFFSA (2008) fixe le taux maximal d'ABVT dans les poissons plats à 30 mg N/100g. Ce seuil est atteint après 7-8 jours pour le contrôle, 11-12 jours pour le MAP, et 14 jours pour le MAP avec extrait de thé.

Par ailleurs, les taux de TMA mesurés à la fin de l'entreposage étaient considérablement hauts. Des taux atteignant 63 mg/100 g ont été observés dans les filets contrôles en fin d'entreposage, mais les concentrations de TMA étaient élevées aussi dans tous les filets avec ou sans traitements dès le jour 12. En comparaison, Santos *et al.* (2013) mesurent des concentrations de TMA de l'ordre de 15 et 4 mg/100 g dans du turbot *Psetta maxima* après 30 jours d'entreposage respectivement avec air et sous une atmosphère MAP similaire à celle utilisée ici. Les poissons provenant d'un élevage, il est possible que la composition et la microflore d'altération diffèrent de celles des espèces sauvages. Dans une étude interne réalisée à Gaspé sur la morue de qualité supérieure, le seuil de TMA de 15 mg/100 g avait été établi comme critère biochimique principal dans la morue. Sur cette base, le taux de TMA dépasse le seuil acceptable entre 5 et 8 jours pour les filets contrôles, entre 8-12 jours pour le MAP, et vers 12 jours pour le MAP+T.

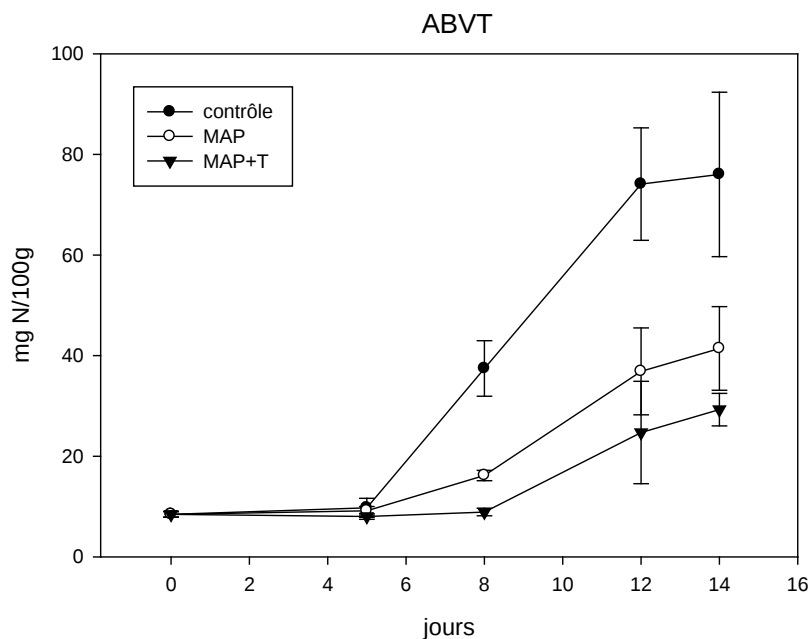


Figure 14. Mesures d'ABVT dans les filets pendant l'entreposage.

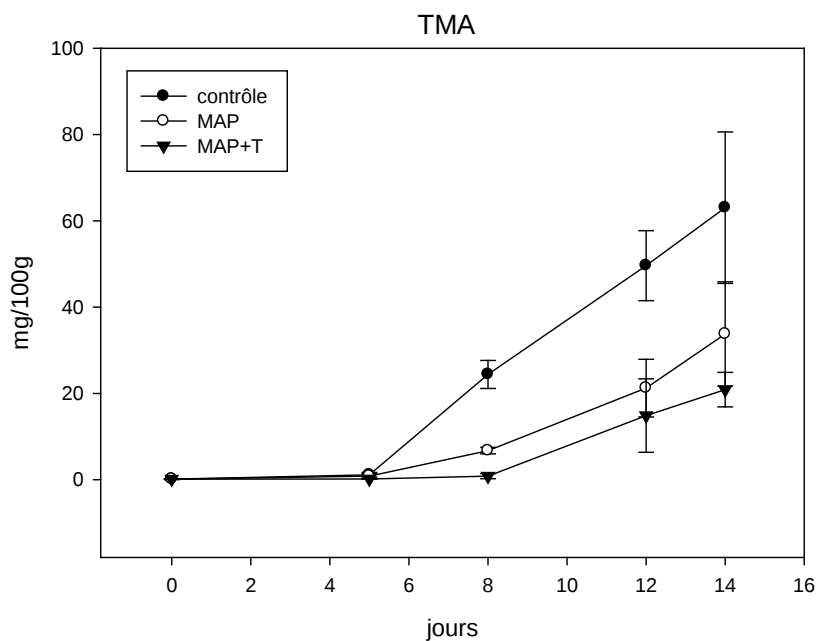


Figure 15. Mesures de TMA dans les filets pendant l'entreposage.

Le pH de la matière première, capturée environ 24 heures avant le début des analyses, s'est révélé plutôt élevé (7,26) malgré que la fraîcheur du produit ne fasse pas de doute, la chair des poissons a normalement un pH très près de la neutralité au moment de la capture, suivie d'une baisse à environ 6,0-6,7 liée à la production d'acide lactique lors de la phase de *rigor mortis*. Des pH de l'ordre de 6,28-6,54 sont obtenus dans la chair de turbot 24 heures après la capture (Santos *et al.* 2.13; Roth *et al.*, 2014), ce qui est nettement plus bas que le pH mesuré ici. Dans les échantillons, les valeurs faibles

d'ABVT et de TMA indiquent cependant que les amines volatiles ne sont pas la cause de ce pH initial élevé.

Après une légère baisse attribuée au *rigor mortis* dans les premiers jours, le pH des filets avec air a légèrement augmenté à partir du jour 8, reflétant fidèlement la production progressive d'amines volatiles observée lors des mesures d'ABVT et de TMA. L'emballage MAP a quant à lui provoqué une baisse plus marquée du pH (6,82-6,88) en raison de la dissolution du CO₂, suivie d'une lente remontée jusqu'à 7,04 à la fin de l'entreposage due à la production d'amines. Aucune différence entre les filets MAP avec et sans extrait de thé n'est apparue.

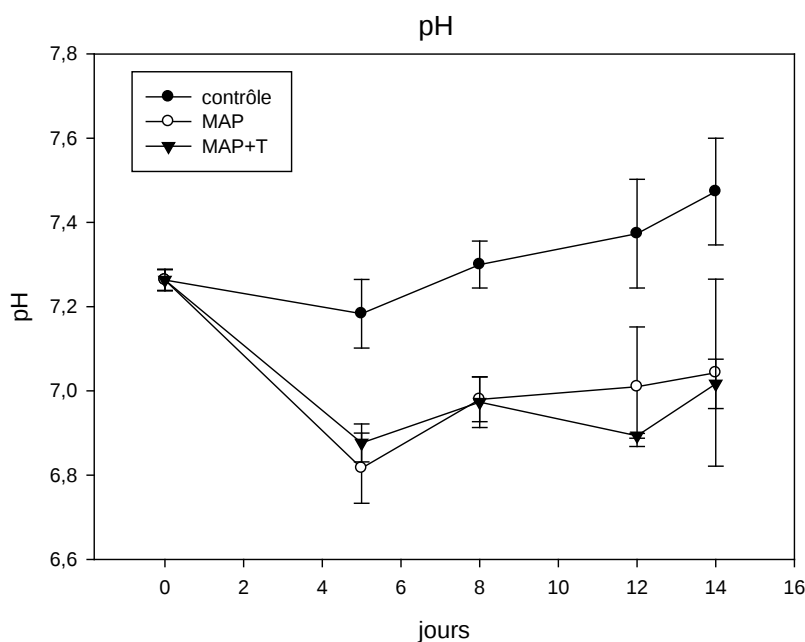


Figure 16. Mesures de pH dans les filets pendant l'entreposage.

Pour tous les traitements, incluant les filets contrôles exposés à l'air confiné dans les barquettes, les valeurs de l'indice totox indiquent que le taux d'oxydation des lipides est extrêmement faible, sinon nul, pendant toute la durée d'entreposage (< 1 unité pour tous les échantillons, le seuil de qualité dans l'huile de poisson est de 26 unités selon le standard de l'Union européenne), et ce, en dépit d'un taux de gras de 5-7 % dans les filets de turbot ayant servi aux essais. Ce résultat est surprenant, car une oxydation des lipides était anticipée, surtout en emballage contenant de l'air. Le pourcentage d'oxygène dans l'emballage du contrôle, bien que décroissant en raison de la respiration bactérienne, s'est maintenu tout de même entre 10 et 20 % pendant l'entreposage. Les filets contrôles avec air ont au final été rejetés sur la base de l'odeur caractéristique des composés aminés et non pour cause de rancidité. Il semble donc que l'oxydation des lipides ne soit pas un problème pour la conservation du turbot réfrigéré en présence d'air sous emballage hermétique. La teneur naturelle en antioxydants, particulièrement en α -tocophérol, plus élevée dans les poissons plats d'eau froide tels que le flétan et modulée selon la saison (Ruff *et al.*, 2002), pourrait avoir contribué à la faible oxydation des lipides.

Composition des gaz après congélation

Dans l'éventualité où les filets emballés sous MAP devaient être entreposés au congélateur plutôt que gardés réfrigérés, la question du comportement des gaz s'est posée. Les fabricants établissent la perméabilité des pellicules selon un protocole standard à température ambiante, mais aucune information n'est disponible sur la perméabilité à basse température (réfrigération et congélation). La perméabilité à l'oxygène (OTR < 130 cc/m²/24 h) de la pellicule multicouche utilisée à température ambiante est très faible selon la fiche technique du fournisseur, de même que la perméabilité à la vapeur d'eau

(WVTR < 10 g/m²). Des barquettes scellées (en duplicata) avec le mélange gazeux 50/5/45 % ont été placées à -18 °C pendant 24 heures. Les mesures faites avec le Dansensor après 24 heures sur les barquettes entreposées à basse température montrent que la proportion d'oxygène et de CO₂ dans les barquettes demeure la même sous congélation et sous réfrigération.

Tableau 16. Mesures de CO₂ et de O₂ dans les barquettes congelées et réfrigérées.

	CO ₂	O ₂
Composition initiale dans les barquettes	49,1 %	5,3 %
Sous réfrigération après 24 heures	32,2 %	6,8 %
Sous congélation après 24 heures	31,1 %	6,9 %

Les filets décongelés avaient conservé leur couleur d'origine (blanc crème) et leur aspect était légèrement plus mat que les filets réfrigérés.

5. Discussion et conclusion

Les nombreuses mesures effectuées sur les produits marins lors de ce projet ont montré dans l'ensemble que les inhibiteurs naturels présentent un effet antimicrobien réel. Ces inhibiteurs sont pour la plupart des extraits plus ou moins bruts d'origine végétale. Le principe actif contenu dans ces extraits coexiste avec d'autres composants organiques inertes sur le plan microbiologique, mais qui modifient sensiblement les propriétés organoleptiques des produits marins, que ce soit la couleur, l'odeur ou le goût. Lorsque ces extraits sont appliqués en concentration suffisante pour induire une activité inhibitrice envers les bactéries d'altération, des changements sensoriels apparaissent et sont inévitables. Or, la chair de poisson possède une saveur délicate, une coloration très pâle, sauf les salmonidés, et une odeur caractéristique à l'état frais qui supportent très mal les changements importants de saveurs et de teintes découlant de l'ajout d'extraits naturels. Malgré les multiples tentatives, il n'a pas été possible d'élaborer une façon d'ajouter des inhibiteurs naturels sans affecter les caractères sensoriels des produits marins. L'immersion dans de l'extrait de thé vert à faible concentration est le traitement qui a le moins modifié la qualité initiale du poisson et conduit à une augmentation de la durée de conservation de filets de turbot lorsqu'appliqué en combinaison avec un emballage sous atmosphère modifiée.

La texture moins ferme du turbot traité avec l'extrait de thé vert sous MAP est difficile à expliquer. Gai (2014) note que le traitement au thé vert n'affecte pas la texture des filets de tanche traités avec un extrait de thé vert de 0,1 %. Appliqué par immersion à de la carpe entière par Li *et al.* (2012), l'extrait de thé 0,2 % a raffermi la texture de la chair. Immersés dans de l'extrait de thé vert à 0,2 %, Ju *et al.* (2018) observent que l'immersion de filets d'achigan dans de l'extrait de thé vert a accentué l'élasticité et la fermeté de la chair entreposée à 4 °C jusqu'à 12 jours. On ne peut exclure pour l'instant que cette observation sur la texture ne soit qu'accidentelle, étant donné qu'au jour 12 les filets étaient acceptés par les évaluateurs. Des essais supplémentaires devraient être faits pour confirmer les observations.

Le procédé décrit ici pourrait éventuellement être applicable à d'autres espèces. Des modifications pourraient être nécessaires, en particulier concernant la composition des gaz. L'efficacité pourrait en outre être augmentée par un entreposage réfrigéré à température maintenue entre 0 et 2 °C. Le UK Seafish Authority (1985) spécifie que la durée de conservation du poisson sous MAP maintenu à 2 °C n'est que de 0,7 fois celle mesurée à 0 °C. Sivertsvik *et al.* (2002) établissent que la température de conservation est cruciale pour l'efficacité du MAP, à 5 °C et 10 °C il n'y a pas de bénéfice à emballer sous MAP, alors qu'à 0 °C, la conservation est allongée de 2-4 jours. Lauzon *et al.* (2010) vont dans le même sens. Une température supérieure à 2 °C fait perdre l'efficacité du MAP car le CO₂ se dissout moins dans la chair. L'entreposage à 0-2 °C ne correspond cependant pas aux réalités du terrain étant donné qu'en pratique les températures observées dans les présentoirs et dans les réfrigérateurs des consommateurs se situent très souvent au-delà de la plage 2-4 °C. Incidemment, le gain obtenu en termes de durée de conservation se trouverait diminué par les situations d'abus de température lors de la distribution et la vente au détail. Il serait utile d'en tenir compte avant d'adopter le procédé en production commerciale.

Certains auteurs observent que le poisson sous MAP se conserve encore plus longtemps s'il a été congelé au préalable. En effet, Guldager *et al.* (1998) établissent que la morue mise en MAP (40 % CO₂/60 % N₂) puis congelée (2 mois à -20 °C) et entreposée à 2 °C s'altère moins rapidement que de la morue fraîche, au détriment d'une plus forte exsudation. Emborg *et al.* (2002) estiment à 1 à 2 semaines l'allongement de la conservation de saumon réfrigéré sous MAP grâce à une congélation préalable à -20 °C. Ce phénomène serait attribué à la destruction de la bactérie *Photobacterium*, qui est dominante dans les produits MAP, mais très sensible à la congélation. Cette bactérie marine est absente dans les viandes, ce qui explique en bonne partie que la mise en MAP n'augmente que modérément la conservation du poisson comparativement aux produits carnés (Leroi, 2010).

Bien que techniquement plusieurs publications rapportent que des durées de conservation de poisson supérieures à 14 jours en MAP réfrigéré sont possibles, la question de l'acceptabilité réglementaire se pose en raison du risque de développement de la bactérie *Clostridium botulinum* non protéolytique. En raison de la quasi-absence d'oxygène dans l'emballage, le risque de croissance de *C. botulinum* est documenté lorsqu'aucune autre barrière microbiologique ne limite sa croissance. En situation d'abus de température (> 3 °C), la possibilité que la toxigénèse précède l'altération sensorielle du poisson est à considérer. Sur ce point, on peut citer la position de l'ACMSF britannique (1992) qui indique que le risque de botulisme est suffisamment faible pour des produits gardés à moins de 10 °C pendant pas plus de 10 jours. Pour un entreposage de plus de 10 jours de produits n'ayant pas reçu de traitement thermique pour inactiver les spores de *C. botulinum psychrotrophes*, il faut ajouter des barrières telles que pH < 5,0 ou Aw < 0,97 ou NaCl > 5 %. Mentionnons aussi la position plus stricte de l'ACMSF : si la température de réfrigération est la seule barrière, la conservation à moins de 5 °C est limitée à 10 jours, et entre 5 et 10 °C elle est limitée à 5 jours. Des discussions antérieures avec Santé Canada ont ouvert la porte à la possibilité de distribuer des produits marins sous MAP pendant 14 jours, sous réserve qu'il ne s'agisse pas de produits prêts-à-manger. Toujours sur le plan réglementaire, l'ajout d'extrait de thé vert au poisson n'est pas prévu à la réglementation canadienne. Par conséquent, l'application du procédé de MAP combiné ou non à un traitement avec extrait de thé devrait obtenir l'aval de l'Agence canadienne d'inspection des aliments pour une utilisation industrielle.

En conclusion, l'emballage sous atmosphère modifiée ne peut comporter de réel bénéfice que pour du poisson dont la fraîcheur initiale est impeccable et régulière. Or, la chaîne de capture/production/points de vente ne permet pas toujours d'assurer cette prémisse et les industriels ne contrôlent pas toujours les délais séparant le jour de pêche du débarquement. Enfin, l'empreinte écologique de l'emballage MAP est loin d'être nulle, car les barquettes et la pellicule génèrent des déchets. En contrepartie, l'allongement de la durée de conservation peut contribuer à limiter les pertes de produits et le gaspillage alimentaire.

6. Références

- ACMSF (Advisory Committee on the Microbiological Safety of Foods), 1992. Report in vacuum packaging and associated processes. <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/acmsfvacpackreport.pdf>
- AFSSA, 2008. <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2007sa0174.pdf>
- Ahn J., Grun I., Mustapha A., 2004. J. Food Prot. 67 : 148-155
- Alfaro B., Hernandez I., Le marc Y., 2013. Food Control 29 : 429-437
- Almajano M., Carbo R., Jimenez J., 2008. Food Chemistry 108 : 55-63
- Ananingsih V., Sharma A., Zhou Y., 2013. Food Res. Intern. 50 : 469-479
- Archer, M., 2010. Sensory assessment scoresheets for fish and shellfish – Torry & QIM. Seafish
- Banon S., Diaz P., Rodriguez M., 2007. Meat Science : 626-633
- Baydar B., Ozkan G., Sagdic O., 2004. Food Control 15 : 335-339
- Boskou G., Debevere J., 2000. Food Additives Contamin 17 : 17-25
- Brannan R., 2009. Meat Sci. 89 : 589-595

- Bureenok S., Tamaki M., Kawamoto Y., 2007. *Asian-Aust. J. Anim. Sci* 20 : 920-924
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), 2000. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow anaerobically*. Approved standard – 5th ed. M7-A5.
- Corbo M., Di Giulio S., Conte A., 2009. *International J. Food Sci. Technol.* 44, 1553–1560
- Dalgaard P., Gram L., Huss H., 1993. *Int. J. Food Microbiol.* 19 : 283-294
- Dalgaard P., 1995. *Intern. J Food Microbiol.* 26 : 319-333
- Debevere J. , Boskou G., 1996. *Intern. J. Food Microbiol.* 31 : 221-229
- Del Nobile M., Corbo M., Speranza B., 2009. *International J. Food Microbiol.* 135 : 281–287
- Emborg J., Laursen B., Rathjen T., 2002. *J. Appl. Microbiol.* 92 : 790-799
- Fan W., Chi Y., 2008. *Food Chem.* 108 : 148-153
- Farber J., 1991. *J. Food Prot.* 54 : 58-70
- Farber J., Dodds, K., 1995. *Principles of modified-atmosphere and sous-vide packaging*. Technomic Publ. Co., 458 p.
- Feng X., Ng V., 2017. *Food Bioprocess Technol* 10 : 89-102
- Fernandez K., Aspe E., Roeckel P., 2009. *Food Control* 20 : 1036-1042
- Friedman M., 2007. *Mol. Nutr. Food Res.* 51 : 116 – 134
- Gai F., Gasco L., Ortoffi M., 2014. *J. Appl. Ichthyol.* 30 (Suppl. 1) : 64–71
- Ghosh V., Mukherjee A., 2013. *Ultrasonics Sonochem.* 20 : 338-344
- Giatrikou V., Kykkidou S., Papavergou A., 2008. *J. Food Sci.* 73 : M167-173
- Goulas E., Kontominas M., 2007. *Food Chem.* 100 :287–296
- Gram L., Trolle G., Huss H., 1987. *Intrn. J. Food Microbiol.* 4 : 65-72
- Guldager H., Boknaes N., Osterberg C., 1998. *J. Food Prot.* 61 : 1129-1136
- Haberbeck L., Riehl C., 2012. *LWT - Food Science and Technology* 46 : 267-273
- Hamilton-Miller J., 1995. *Antimicrob. Agents Chemoth.* 39 : 2375–2377
- Hansen A., Moen B., Rodbotten B., 2016. *Food Pack. Shelf-life* 9 : 29-37
- Haq M., Ahmed R., Cho Y., 2016. *Waste Biomass Valor.* DOI: 10.1007/s12649-016-9710-2
- Jeong, C.H., Ryu, H., Zhang, T., 2018. *Food Sci. Biotechnol.* <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0370-9>
- Joffraud J.J., Cardinal M., Cornet J., Chasles J., Léon S., Gigout F., Leroi F., 2006. *Intern. J. Food Microbiol.* 112 : 51-61
- Ju J., Liao L., Qiao Y., Xiong G., 2018. *LWT - Food Sci. Technol.* 91 :484–490
- Kapetanakou A., Agathaggelou E., Skandamis P., 2014. *Intern. J. Food Microbiol.* 178 : 65-75
- Kim S., Ruengwilysup C., Fung D., 2004. *J. Food Prot.* 67 : 2608-2612
- Klebukowska L., Zadernowska A., Chajeczka W., 2015. *J. Food Sci. Technol.* 52: 1802–1807
- Kykkidou S., Giatrikou V, Papavergou A, 2009. *Food Chem* 115:169–175
- Leistner L., Gorris G., 1995. *Trends Food Sci. Technol* 6 : 41-46
- Li T., Li J., Hu W., Zhang SX., 2012. *Food Chem.* 135 : 140-145
- Lingham T., Besong S., Osbey G., Lee J., 2012. *J Food Process Technol*, S11
<http://dx.doi.org/10.4172/2157-7110.S11-001>
- Leroi F., 2010. *Food Microbiol.* 27 : 698-709

- Lopez-Caballero M., Sanxhez-Fernandez J., 2001. *Intern. J. Food microbiol.* 64 : 277-287
- Lauzon H., Margeirsson B., Sveinsdottir K., Gudjonsdottir M., 2010. *Matis Report* 39-10
- Li M., Wang W., 2013. *J. Food Prot.* 76 : 1377-1383
- Li T., Li J., Hu W., 2012. *Food Chemistry* 135 : 140–145
- Lorenzo J., Sineiro J., Amado I., Franco D., 2014. *Meat Sci.* 96 : 526–534
- Menosa-Menabrito A., Regenstein J., 1990. *J. Food Qual.* 13 : 129-146
- Mejlholm O, Dalgaard P., 2002. *Lett. Appl. Microbiol* 34:27–31
- Moghim R . Ghaderi L., Rafati H., 2016. *Food Chemistry* 194 : 410-415
- Motyl M., Dorso K., Barrett J., Giacobbe R., 2005. *Current Protocols Pharmacol.* 13A.3.1-13A.3.22
- NACMCF, 1992. Vacuum or modified atmosphere packaging for refrigerated raw fishery products. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. 22 p.
- Neffe-Skocinska K., Jaworska D., 2015. *BioMed Res. Intern.* <http://dx.doi.org/10.1155/2015/452757>
- Nirmal N., Benjakul S., 2011. *Int. J. Food Microbiol.* 149 : 247-253
- Pastoriza L., Sampedro G., Herrera J., 1998. *Food Chem.* 61 : 23-28
- Perumalla A., Hettiarachchy N., *Food Res. Intern.* 44 : 827-839
- Peterson J., Dwyer J., Bhagwat S., 2005. *J. Food Composition Analysis* 18 : 487–501
- Poste, M.L. et al, 1991. Méthodes d'analyse sensorielle des aliments en laboratoire. Agriculture Canada. Publication 1864/F
- Probst I., Sforzin J., Rall V., Fernandes A., 2011. *J. Venomous Animals Toxins.* 17 : 159-167
- Provincial L., Gil M., 2010. *Intern. J. Food Sci. Technol.* 45 : 1828-1836
- Pyrgotou N., Giatrikou V., 2010. *J. Food Sci.* 75 : M406-411
- Randell K., Hattula T., Skytta E., 1999. *J. Food Quality* 22 : 483-497
- Reddy N., Solomon H., Rhodehammel A., 1999. *J. Food Safety* 19 : 171-183
- Roth R., Kramer L., Skuland A., Lovdal T., Oines S., 2014. *J. Food Sci.* 79 : 1568-1574
- Ruff N., Fitzgerald R., Cross T., Kerry J., 2002. *Aquacult. Intern.* 10 : 241-256
- Sade E. LAssila E., Bjorkroth J., 2016. *Food Microbiol.* 53 :110-114
- Santos J., Lisboa F., Pestana N., Casal S., Alves M., Oliveira M., 2013. *Food Bioprocess. Technol.* 6 : 2630-2639
- Schwalbe R., Steele-Moore L., Goodwyn A., 2007. *Antimicrobial susceptibility testing protocols.* CRC Press Publ., 414 p.
- Sivertsvik M., 2007. *LWT - Food Science and Technology* 40 : 430-438
- Sivertsvik M., Jeksrud W., Rosnes T., 2002. *Intern. J. Food Sci. Technol.* 37 : 107-127
- Socol M., Oetterer M., Gallo C., 2005. *Braz. J. Food Technol.* 8 : 7-15
- Speranza M., Corbo A., Conte M., 2009. *J. Food Sci.* 74 : 472-478
- Stammen K., Gerdes D., Caporaso F., Martin R., 1990. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 29 : 301-331
- Thiansilakul Y., Benjakul S., Richards M., 2013. *LWT - Food Sci. Technol.* 50 :146-152
- Unalan I., Dalgaard P., Korel F., 2011. *Proc. International Food Congress, Novel Approaches in Food Industry, mai 2011, Cezme-Izmir, Turquie*, DOI: 10.13140/2.1.1526.4801
- UK Seafish Industry Authority, 1985. *Guidelines for the handling of fish packed in a controlled atmosphere.* ISBN 0-903941-26-0

Van Haute S., Raes K., Van Der Meeren P., 2016. Food Control 68 : 30-39
Villemure G., Simard R., Picard G., 1986. J. Food Sci. 51 : 317-320
Woyewoda A., Bligh E., Shaw S., 1984. Can. Inst. Food Sci Technol J. 17 : 24-27
Xi D., Liu C., Su Y., 2012. Food Control 25 : 368-373
Xue J., Zhong Q., 2014. J. Agric. Food Chem. 62 : 9900-9907

7. Remerciements

L'auteur désire remercier le personnel de Merinov ayant collaboré à ce projet : Sharon Thibault et Julie Laporte, qui ont œuvré en microbiologie, Luc Leclerc et Ann Provençal qui ont pris en charge les évaluations sensorielles, le personnel du laboratoire de chimie, Marie-Élise Carbonneau, Diane Ouellet, Arnold Blais et Christophe Valent ainsi que Antoine Nicolas et Karine Berger qui ont participé au volet MAP.

Annexe 1

Évaluations sensorielles des filets de plie et de turbot après trempage à l'étape 1.3.2

Pour la plie

Traitements inhibiteurs	Observations des évaluateurs
Contrôle	Frais, bonne odeur marine. Très bon goût, petit goût salé détecté agréable. Belle couleur blanche.
T1 (0,5 %)	Odeur fruitée et sucrée, odeur marine atténuée. Teinte vraiment rosée, les fibres blanches sont très marquées. Après cuisson perte complète de goût de poisson, pas d'amertume. En bouche, laisse une impression rêche (langue râpeuse) et astringente.
T2 (0,2 %)	Odeur agréable semblable à T3. Teinte rosée inacceptable. Après cuisson, goût de poisson détecté, petit goût fruité et acide en arrière-bouche.
T3 (0,05 %)	Odeur marine dominante, agréable, autre odeur indéterminée est perçue. Teinte plutôt gris verdâtre, limite en acceptabilité, mais sans doute acceptable pour le consommateur. Après cuisson, goût de sel absent dû au trempage, goût de poisson en fin de bouche, mais faible. Quasi-absence de goût.
V1 (1 ml surface 1,5 %)	Odeur sucrée, odeur de vinaigre presque imperceptible, mais moins apparente que V3. Odeur marine présente, sent le poisson. On ne peut pas vraiment dire que le filet a reçu un traitement. Aucun changement de couleur avant ni après cuisson. Au goût, moins salé que le contrôle, même goût que V3. Détecte un petit goût différent. Goûte moins le MSG que V2. Les deux filets avec Verdad 1,5 % sont semblables au niveau du goût, pas du tout désagréable.
V2 (trempage 0,5 %)	Odeur marine présente, très légère odeur de vinaigre détectée en agitant le sac, pas désagréable. Une personne perçoit une légère saveur de MSG. Une autre un petit goût acide sur la langue, passager, après quoi identique au contrôle. Délicieux.
V3 (trempage 1,5 %)	Un peu moins salé. Détecte un peu plus un goût acide sans toutefois pouvoir identifier le vinaigre. Pas désagréable.

Pour le turbot

Traitements inhibiteurs	Observations des évaluateurs
Contrôle	Frais, bonne odeur marine. Très bon goût, petit goût salé détecté agréable, gras normal. Belle couleur blanche.
T1 (0,5 %)	Ne sent pas le poisson. Odeur sucrée fruitée, odeur marine détectée pas désagréable. Teinte vraiment rosée inacceptable. Après cuisson, chair blanc rosé avec stries rouge gris, ligne médiane foncée. Goût de gras présent, texture astringente. Goût de poisson détecté, mais plutôt fade. L'effet en bouche ne plaît pas.
T2 (0,2 %)	Odeur marine détectable, mais diminuée, fraîche et pas désagréable. Légèrement rosé, pas acceptable. Après cuisson, chair blanche légèrement rosée, les stries sont plus foncées et grisées. Goût de turbot présent.
T3 (0,05 %)	Une personne détecte un léger goût de fumée. Couleur identique au contrôle. Après cuisson, chair blanche, stries ont bruni. Goût de turbot présent, aucune autre saveur détectée sauf goût typique de poisson.
V1 (1 ml surface 1,5 %)	Odeur marine, très légère odeur de vinaigre pas désagréable. Après cuisson odeur de vinaigre non perçue. Petit goût sucré, moins salé que contrôle et V2. Semble un peu plus ferme.
V2 (trempage 0,5 %)	Odeur marine, très légère odeur de vinaigre presque imperceptible, pas désagréable. Goût salé similaire au contrôle, pas d'autres saveurs que celle

	typique du poisson.
V3 (trempage 1,5 %)	Odeur vinaigrée perceptible, odeur marine en arrière-plan, mais pas désagréable. Goût de poisson moins présent, n'a pas la saveur typique du turbot. Moins salé et petit arrière-goût sucré. Texture un peu moins ferme, s'effeuille plus facilement que le contrôle.

Annexe 2. Évaluation sensorielle des filets de turbot conservés sous MAP dans différents mélanges gazeux

Observations des évaluateurs en fonction du jour de l'évaluation

Jour 0 (matière première)

Chair blanche, ligne légèrement jaune près de la colonne, quelques traces de meurtrissures; fraîche odeur marine, caractéristique d'un poisson très frais; après cuisson, saveur légèrement de beurre et de noisette; chair molle dans les sections plus minces et floconneuses dans les parties plus épaisses; impression de matière grasse en bouche.

Jour 6

Mélanges gazeux	Apparence et état de l'emballage	Odeur à l'ouverture	Odeur après 2 minutes	Appréciation après cuisson
90 : 0 : 10 (#1)	Beaucoup d'exsudat jaune, chair colorée verdâtre/jaune, pellicule tendue vers l'intérieur et collée sur le poisson, barquette déformée (dessous bombé vers l'intérieur)	Odeur particulière affectée par défaut au CO ₂ , qui se dissipe rapidement; reste une odeur d'eau de mer	Pas d'odeur de poisson, mais plutôt d'eau de mer	Saveur beurrée, certains notent une mucosité côté peau gluante et épaisse, associée au gras
60 : 0 : 40 (#2)	Du côté peau, ligne de gras plus foncée, légère teinte verdâtre, pellicule de la barquette est lâche	Odeur particulière affectée par défaut au CO ₂ , qui se dissipe rapidement, très légère odeur de poisson surtout côté peau	Odeur légère de poisson frais côté peau	Saveur beurrée plus marquée que mélange #1, chair un peu plus sèche en bouche, légère astringence perçue en fin de bouche par un évaluateur
50 : 5 : 45 (#3)	Ligne de gras plus foncée (brun) côté peau, légère dépression de la barquette	Pas d'odeur particulière à l'ouverture, légère odeur de poisson frais	Légère odeur de poisson salé séché	Odeur fraîche de poisson gras (beurre, noisette), goût agréable
contrôle air (#4)	Pellicule un peu embuée à l'intérieur, très peu d'exsudat, chair et ligne de gras couleur rosée, pellicule un peu bombée	Aucune odeur	Odeur de poisson de bonne qualité, un certain verdissement visible sur une partie superposée	Odeur de poisson salé, texture plus sèche que le #3; saveur agréable

Jour 9

Mélanges gazeux	État de l'emballage	Odeur à l'ouverture	Odeur après 2 minutes	Appréciation après cuisson
90 : 0 : 10	Pellicule tendue et barquette déformée, ligne latérale jaune/verdâtre, aspect luisant de la chair	Odeur de « CO ₂ », odeur de poisson peu frais	Aucune odeur d'altération	Odeur neutre de poisson, saveur un peu végétale, feuillets peu cohésifs
60 : 0 : 40	Ligne latérale jaune/verdâtre, lignes de gras brunies, surface luisante	Odeur semblable à celle du poulet en MAP, plus marquée que #1, disparaît rapidement	Légère odeur de poisson salé, légère odeur aigre	Odeur de pommes de terre et de poisson salé séché, saveur beurrée et sucrée, amertume perçue par un évaluateur, texture plus sèche que le frais
50 : 5 : 45	Ligne de gras brunie, chair blanche teintée de rose, aspect luisant	Odeur végétale légère de melon et pomme de terre, sucrée	Neutre	Saveur de noisette, un peu beurrée et sucrée, texture plus friable que le contrôle
Contrôle air	Perte de couleur rose, tend vers le brun, jaunissement de la chair; surface d'aspect mat	Neutre, poisson légèrement aigre	Très légère odeur de salé séché et surissement perçue par un évaluateur	Saveur beurrée, légère amertume perceptible, texture plus sèche et farineuse

Jour 13

Mélanges gazeux	État de l'emballage	Odeur à l'ouverture	Odeur après 2 minutes	Appréciation après cuisson
90 : 0 : 10	Barquette déformée; chair blanche encore rosâtre, exsudat jaune laiteux, ligne latérale jaune, gras bruni côté peau, aspect luisant	Odeur semblable à celle du poulet en MAP, certains détectent faible odeur ammoniac	Légère odeur marine de poisson frais	Odeur sucrée; saveur beurrée légèrement acide; chair plus sèche
60 : 0 : 40	Teinte jaune verdâtre, gras bruni côté peau, mais moins foncé que #3 et #4; aspect luisant	Odeur semblable à celle du poulet en MAP	Légère odeur acide par un évaluateur	Odeur piquante d'ammoniac, saveur de pomme de terre, n'a plus le goût typique de poisson
50 : 5 : 45	Chair côté peau encore rosée, gras bruni côté peau; aspect luisant	Odeur neutre, pas d'altération perceptible	Odeur fraîche iodée, sucrée et « vanillée »	Odeur neutre un peu beurrée et légèrement sucrée, s'apparente à celle des crustacés, saveur acceptable
Contrôle air	Brunissement important du gras côté peau; exsudat	Odeur de poisson altéré (urée, amines, lait caillé)	Odeur d'ammoniac marquée	Altéré, n'a pas été goûté par les évaluateurs

Mélanges gazeux	État de l'emballage	Odeur à l'ouverture	Odeur après 2 minutes	Appréciation après cuisson
	jaunâtre sur le filet, plus luisant qu'à T9; présence de points blancs visibles sur les parties brunes			

Jour 15

Mélanges gazeux	État de l'emballage	Odeur à l'ouverture	Odeur après 2 minutes	Appréciation après cuisson
90 : 0 : 10	Barquette déformée, partie mince du filet verdâtre, le reste jaune verdâtre, lignes de bras brunies tendent à verdir; aspect luisant	Odeur d'altération avancée	Odeur de surissement, altération avancée	Odeur piquante d'ammoniac; altéré, n'a pas été goûté par les évaluateurs
60 : 0 : 40	Pellicule est flasque; lignes de gras brunies, liquide jaunâtre dans les interstices de la chair, surface luisante	Odeur végétale, de chou un peu suri, pas d'odeur de poisson	Pas d'odeur d'altération, mais absence d'odeur typique du poisson	Légère odeur ammoniaquée et de surissement, altéré, n'a pas été goûté par les évaluateurs
50 : 5 : 45	Pellicule est flasque; lignes de gras brunies, liquide jaunâtre dans les interstices de la chair restée blanche, surface luisante	Légère odeur d'altération (lait caillé ou herbe mouillée)	Pas d'odeur d'altération, légère odeur végétale, un peu d'odeur typique du poisson	Légère odeur de surissement moins forte que #2, odeur typique du poisson; belle fermeté, feuillets démarqués, traces d'acidité, sensation de beurre un peu ranci, amertume en fin de bouche
Contrôle air	Film tendu et n'est plus bombé, jaunissement général, parties grasses brunies tendent à verdir, points blancs s'étendent (altération microbienne), aspect mat	Putride	Putride	Altéré, n'a pas été goûté par les évaluateurs



Filets de turbot sous MAP au jour 9.



Filets de turbot sous MAP au jour 13.

Annexe 3. Équipement d'emballage sous atmosphère modifiée



Mélangeur de gaz



Opérculeuse



Analyse de la composition des gaz dans les emballages MAP.

Annexe 4

Évaluation sensorielle des crevettes traitées avec les inhibiteurs naturels (partie 1.2)

Traitements	Commentaires
1	Odeur un peu piquante, couleur acceptable, goût de romarin trop fort
2	N'a plus d'odeur de crevette, couleur inacceptable
3	Couleur beige à jaune, pas d'odeur d'altération, goût de romarin fort et sensation d'astringence
4	Couleur jaune, odeur de romarin forte
5	Odeur de crevette moyennement fraîche, pas de citron, très belle couleur, teinte rose plus prononcée que le contrôle
6	Odeur de citron non perceptible, très belle couleur, teinte rose plus prononcée que le contrôle, meilleure que le contrôle, texture molle, acidité détectable
7	Pas d'odeur d'altération, couleur jaune, texture ferme
8	Légère odeur d'altération (moins que le 9), pas d'odeur de thé, texture assez ferme
9	Odeur d'altération, légère couleur beige/vert, mais acceptable
10	Légère odeur d'altération (moins que le 9), couleur jaune, texture molle
11	Légère odeur d'altération moins marquée que le contrôle, belle couleur
12	Odeur « épicée », mais pas d'altération, couleur jaune
13	Odeur de romarin; couleur jaune pâle
14	Odeur assez neutre, couleur jaune; texture défaite; goût de romarin, sensation d'astringence, acidité perceptible
15 (contrôle)	Crevette dégradée

Annexe 5

Évaluation sensorielle des moules traitées avec les inhibiteurs naturels (partie 1.2)

#	Couleur au jour 0	Goût au jour 0
A	Typique	Excellent, caractéristique des moules, goût « sucré » typique
B	Légèrement plus orangées	Goût de thé perceptible, laisse un arrière-goût, légère amertume
C	Typique	Désagréable, goût de romarin très puissant
D	Typique	Très léger goût de citron, pointe d'acidité
E	Typique	Goût de thé notable qui s'harmonise assez avec celui du citron; masque un peu le goût de moule
F	Typique	Fort goût de romarin, à peine atténué par l'acidité du citron
G	Typique	(Odeur des inhibiteurs trop marquée pour évaluer l'échantillon)
H	Couleur assez rougeâtre même sur les parties pâles	Fade (pas de sel), goût de moule un peu perceptible; un peu d'amertume; légère acidité; impression de plus grande fermeté, goût terreux

Annexe 6. Observations sensorielles sur le turbot emballé avec air et sous atmosphère modifiée avant cuisson lors de l'essai final

Jour 5	État emballage (buée, gonflement, affaissement)	Avant cuisson (odeur et autres particularités)	
		Apparence	Odeur
CONT	Film bien tendu, pas de buée, barquette non déformée. Pas d'exsudat au fond	Poisson mat, jauni sous la partie en contact avec autre filet	Plastique à l'ouverture, légère odeur de poisson, végétal/fruity en dessous
MAP	Film très détendu et affaissé avec condensation, barquette non déformée, beaucoup d'exsudat au fond	Poisson brillant, très humide, pas de marque là où filets sont superposés	Odeur de lait frais
MAP+T	Film très détendu et affaissé avec condensation, barquette non déformée, beaucoup d'exsudat au fond	Poisson brillant, très humide, changement de couleur là où poissons superposés	Odeur neutre, concombre très subtil

Jour 8	État emballage	Avant cuisson (odeur et autres particularités)	
		Apparence	Odeur
CONT	Film bien tendu, pas de buée, barquette non déformée. Pas d'exsudat au fond	Poisson brillant, couleur uniforme blanc crème	Odeur de poisson moyen, algue marine échouée, fruitée
MAP	Film très détendu et affaissé avec condensation, barquette non déformée, beaucoup d'exsudat au fond	Poisson brillant, très humide, la ligne latérale tend à jaunir, et myocommes un peu plus foncés	Une odeur carnée à l'ouverture immédiate de la barquette qui se dissipe rapidement. Odeur de poisson très légère à nulle différence du CONT
MAPT	Film très détendu et affaissé avec condensation; barquette non déformée, beaucoup d'exsudat au fond	Poisson brillant, très humide, légère décoloration des filets lorsque superposés	Très léger comme odeur type végétal, aucune dégradation. Sent l'herbe, melon qui représente la fraîcheur. Pas d'odeur de poisson

Jour 12	État emballage	Avant cuisson (odeur et autres particularités)	
		Apparence	Odeur
CONT	Film bien tendu, pas de buée, barquette non déformée. Très peu d'exsudat au fond	Diminution de la brillance p/r T-8, mais encore humide, couleur générale blanc jaune, avec la ligne latérale qui jaunit. Myocommes (entre les myotomes) de couleur brun vert, pas de marque sur le filet en dessous. Texture raide	Odeur de lait suri, poisson très fort à l'ouverture.
MAP	Film très détendu et affaissé avec condensation, barquette non déformée, beaucoup d'exsudat au fond	Poisson brillant, très humide, myocommes de couleur jaune/vert, couleur de la chair blanc crème, texture très molle, pas de marque sur le filet en dessous	Poisson altéré au début qui s'estompe rapidement. Puis odeur de concombre-melon qui apparaît
MAPT	Film très détendu et affaissé avec condensation, barquette non déformée, beaucoup d'exsudat au fond	Poisson brillant, très humide, couleur générale blanc rosé uniforme et myocommes plus foncés presque bruns.	Frais doux melon, pas d'odeur de poisson sur le dessus, mais on détecte l'odeur poisson si on manipule en dessous

Jour 14	État emballage	Avant cuisson (odeur et autres particularités)	
		Apparence	Odeur
CONT	Pas de condensation, film encore tendu	Filet luisant, teint jaune-vert, taches blanches sur les parties minces. Très rigide	Œufs pourris à l'ouverture, odeur de suri, rejeté pour la dégustation
MAP	Beaucoup de condensation dans le film.	Filet luisant, teint blanc verdâtre, ligne latérale jaunie, pourtour des filets légèrement verdâtre; léger changement de teinte où les filets sont superposés	1 ^{er} nez ammoniac ensuite vient le lait tourné, suri. Aucune rancidité. Après cuisson, léger ammoniac à l'ouverture du four
MAPT	Beaucoup de condensation dans le film.	Filet luisant, teint crème rosé. Ligne latérale jaunie	Neutre, herbe fraîche après cuisson très acceptable; pas d'odeur de poisson dégradé
Poisson MAP décongelé	Film légèrement tendu	Filets mats, ligne latérale et myocommes blancs, couleur générale filet blanc crème, certaines parties plus rosées	Odeur poisson frais