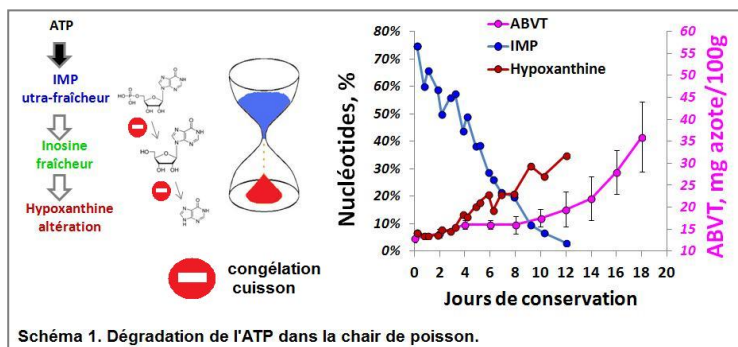


## Mesurer les nucléotides pour garantir la fraîcheur

### "PRECICE® Freshness Assay Kit"

#### Introduction

Doté d'excellente qualité nutritionnelle, les produits aquatiques (poissons, coquillages et crustacés) sont également des produits très fragiles. De nombreuses méthodes de contrôle (dénombrement microbiologique, dosage de l'histamine et d'ABVT) permettent de détecter l'altération de produit (après 10 jours de conservation sur glace) mais pas la fraîcheur même.



La possibilité d'utiliser des nucléotides pour mesurer la fraîcheur a été démontrée pour la première fois par des chercheurs japonais (Saito, T et al Nature, 1959), puis confirmée par plus de 150 articles scientifiques. Dégradation de nucléotides par des enzymes de la chair dépend non seulement de la durée mais aussi de la température de conservation. Ainsi leur taux relatif reflète la fraîcheur globale d'un produit. Les processus tels que la congélation ou la cuisson inactivent les enzymes ce qui permet de connaître l'état de la fraîcheur au moment de la congélation ou cuisson.

Le "PRECICE® Freshness Assay Kit" de NovoCIB apporte une première solution quantitative au problème de contrôle de la fraîcheur en routine. Les enzymes inclus dans le kit permettent la conversion irréversible de trois catabolites majeurs de l'ATP (IMP, Ino et Hx) en un seul composé (NADH) directement mesurable par son absorbance spécifique à 340nm. La thermostabilité de nucléotides et la sélectivité des enzymes rendent le procédé de dosage extrêmement simple, les enzymes sont ajoutés directement dans le "bouillon" de poisson. La lecture de l'absorbance après 30min d'incubation permet de connaître la fraîcheur de produit très rapidement (Schéma 2). Les réactions enzymatiques irréversibles et la forte teneur des muscles en nucléotides sont à la base de forte fiabilité de cette mesure.

#### Réglemmentation

Aujourd'hui la mesure de la fraîcheur ne peut se substituer aux méthodes d'évaluation de la fraîcheur prévues par les règlements 853/2004 et 2074/2005 (évaluation organoleptique, ABVT). Cependant, le dosage de l'ABVT est difficilement interprétable pour un certain nombre de produits (cuits ou ayant subi une transformation, poissons gras et poisson frais préemballé).



NOTE DE SERVICE  
DGAL/SDSSA/N2013-8083  
Date: 14 mai 2013

Selon la note de service DGAL/SDSSA/N2013-8083 du 14 mai 2013 concernant la congélation des denrées alimentaire d'origine animale: "La congélation effectuée immédiatement après l'abattage limite la croissance des bactéries et par conséquent, la charge microbiologique lors de la décongélation... Cela suppose que la denrée doit être soumise à la congélation:

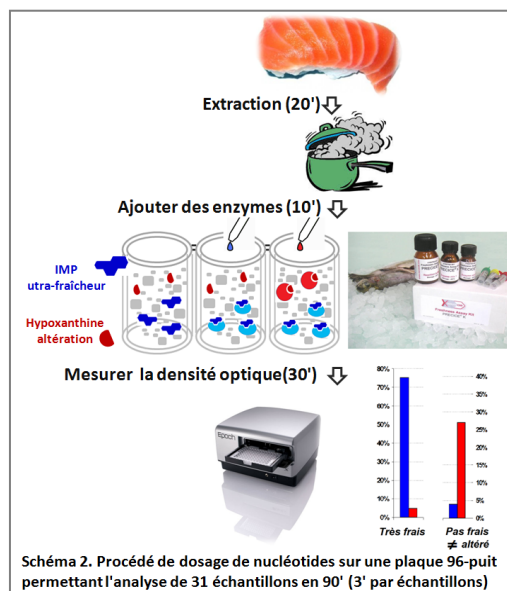
- "rapidement" pour les poissons dans les navires congélateurs;
  - "le plus rapidement possible" pour les produits de la pêche séparés mécaniquement...
- Il est par conséquent de la responsabilité de l'opérateur de congélation de veiller à la fraîcheur des denrées soumises à congélation"

#### Le contrôle de la fraîcheur permet:

- ✓ Garantir la fraîcheur d'un produit;
- ✓ Positionner le produit par rapport à la concurrence;
- ✓ Contrôler la qualité de la matière première;
- ✓ Connaître la fraîcheur toute au long de la chaîne de fabrication/distribution;
- ✓ Définir la durée de vie d'un produit.

#### Quel type de produit?

- ✓ Poisson/crustacés/mollusques;
- ✓ Entiers/découpés;
- ✓ Frais/ surgelés;
- ✓ Produits ayant subis une transformation (salaison, fumaison, pasteurisation ou stérilisation);
- ✓ Conserves.

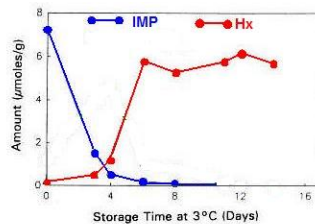
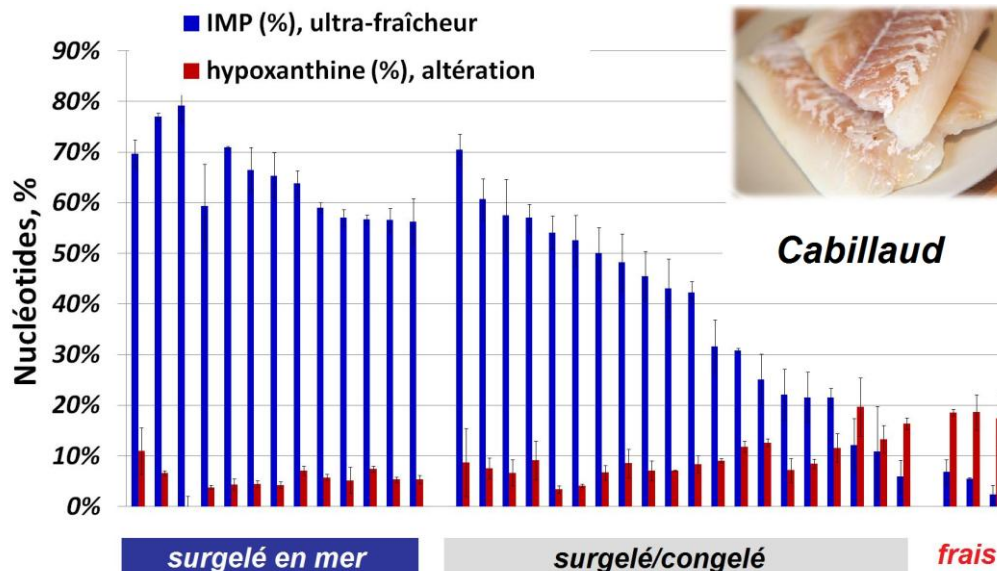


Sources: Saito, T, Arai, K.I. and Yajima T. (1959) Changes in purine nucleotides of red lateral muscle of rainbow trout. *Nature* 184: 141

## Produits de la mer:

### 1) Cabillaud surgelé bord :

Selon les résultats publiés en 1990 (Gill *et al*, 1990), au bout de 4 jours de conservation à 3°C l'IMP est totalement dégradé dans la chair de cabillaud. Ceci fait de l'IMP un excellent indicateur d'ultra-fraîcheur permettant de vérifier la haute qualité de cabillaud surgelé en mer.



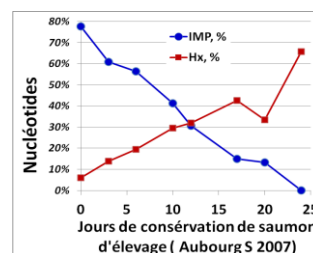
Changes in IMP, Ino and Hx in cod fillets at 3°C adapted from Gill (1990)

**Sources:** Gill, T.A. (1990). *Objective analysis of seafood quality*. Food Rev. Int. 6, 681-714; Aubourg SP et al (2007) *Food Chemistry Autolytic degradation and microbiological activity in farmed Coho salmon (Oncorhynchus kisutch) during chilled storage*, vol. 104, no1, pp. 369-375

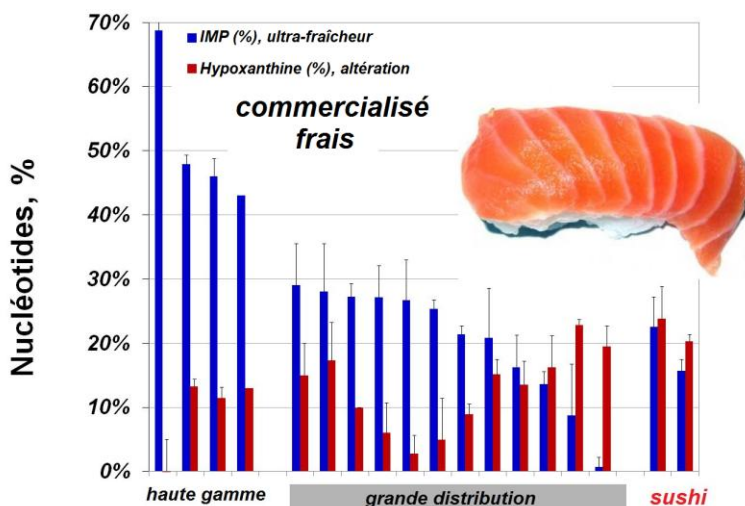
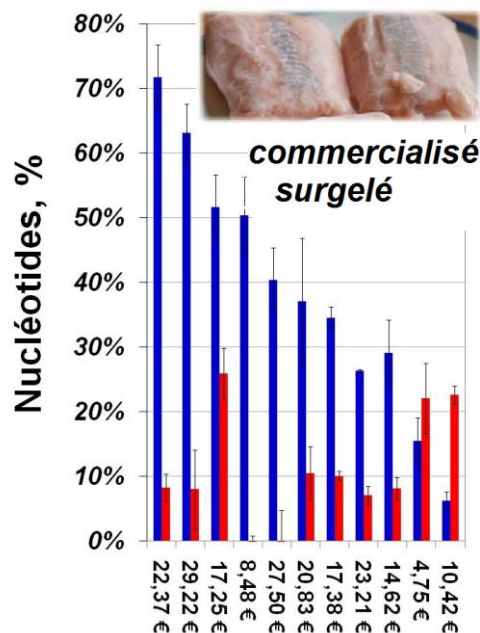
Selon l'analyse de 13 cabillauds surgelés bord/en mer, leur teneur en IMP est très haut (64.4±7.9%) en comparaison avec le cabillaud surgelé/congelé sans cette appellation (38.2±8.7% de moyenne, 20 échantillons) et le cabillaud commercialisé frais (4.9±2.3% de l'IMP, 3 échantillons).

### 2) La qualité très hétérogène de filets de saumon (surgelés et frais)

Au moins 3 semaines sont nécessaires pour que l'IMP soit totalement dégradé dans la chair de saumon (Erikson U. et al Food Sci 1997). Il a été proposé alors de fixer à 20-30% de l'IMP le seuil de rejet de saumon frais. Selon nos résultats, la teneur moyenne en IMP de filets de saumon vendus surgelés ou frais en France est de 38,7% et de 22,2%, respectivement, (2x 11 échantillons). Les 2 échantillons de "sushi" de saumon présentaient la teneur en IMP de 16% et 22%. La fragilité de filets de saumon et la difficulté d'évaluation de leur fraîcheur par les méthodes sensorielles pourraient être à la base de forte hétérogénéité de ce produit.

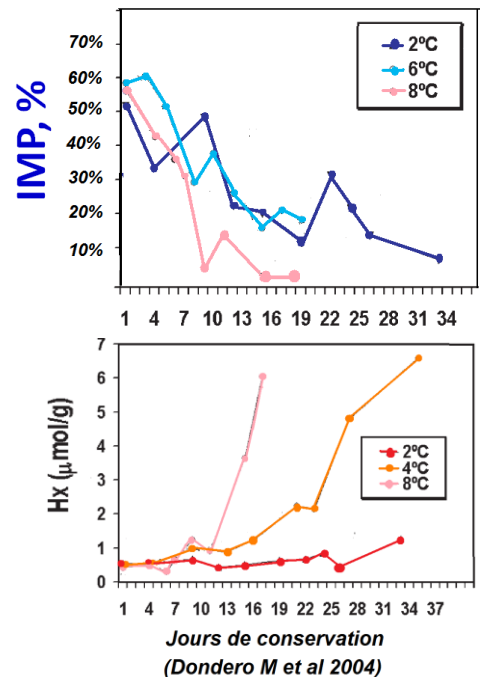
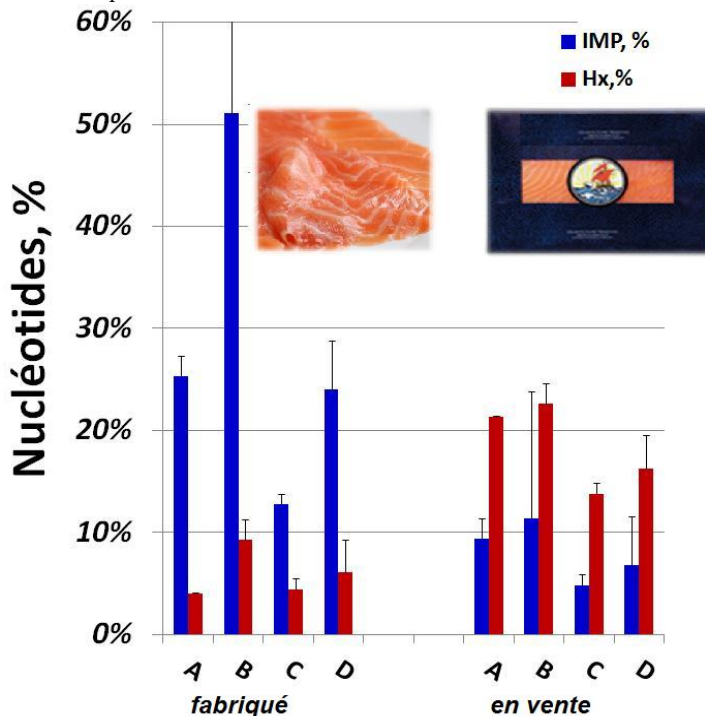


**Sources:** Erikson U et al (1997) *Muscle High-Energy Phosphates and Stress Affect K-Values during Ice Storage of Atlantic Salmon (Salmo salar)* Journal of Food Science 62 (1), pp 43-47.



### 3) Saumon fumé: la température de conservation

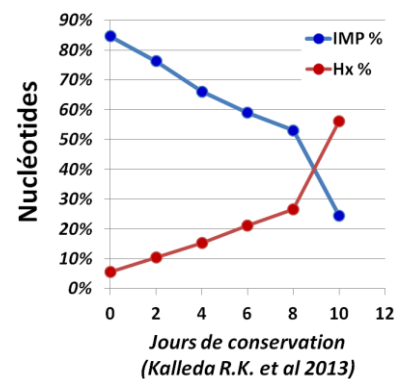
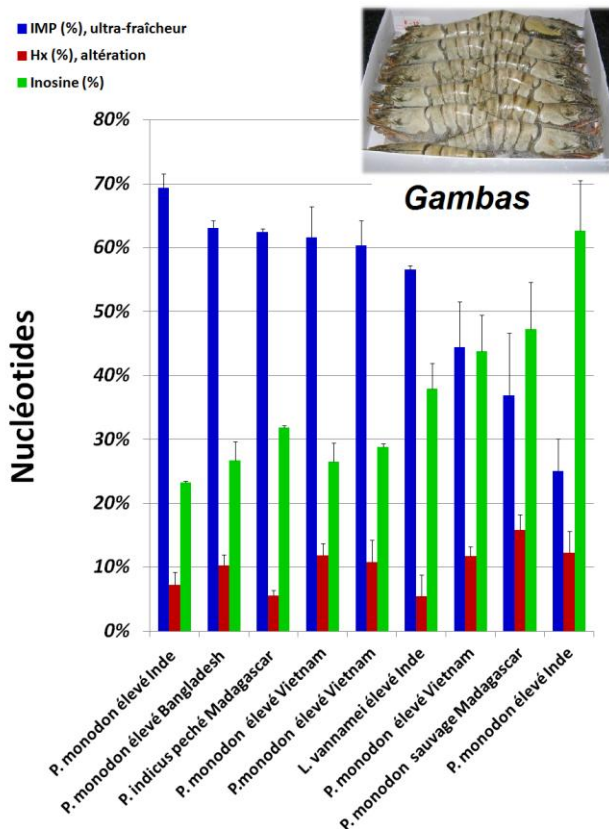
Truelstrup et al (1995), et ensuite Dondero M et al (2004) ont démontré que la dégradation de nucléotides dans la chair de saumon fumé s'accélère dramatiquement si la température de conservation augmente de 4°C à 8°C. Ainsi, le dosage de nucléotides dans la chair de saumon permet de vérifier si les conditions de transport /conservation ont été respectées.



**Sources:** M. Dondero, F.Cisternas, L. Carvajal, R. Simpson (2004) Changes in quality of vacuum-packed cold-smoked salmon (*Salmo salar*) as a function of storage temperature Food Chemistry 87 543–55; Truelstrup, L Gill, T., & Huss, H. (1995). Effect of salt and storage temperature on chemical, microbiological activity on quality of cold-smoked salmon. Food Research International, 28(2), 123–130.

### 4) Gambas surgelés

Selon de nombreuses publications, le processus de dégradation de l'ATP dans la chair de crustacés est proche de celui de poisson (Kallada, R et al 2013, Goncalves et al 2003, Jinag et Lee, 1988, Konosu & Yamagushi 1998).



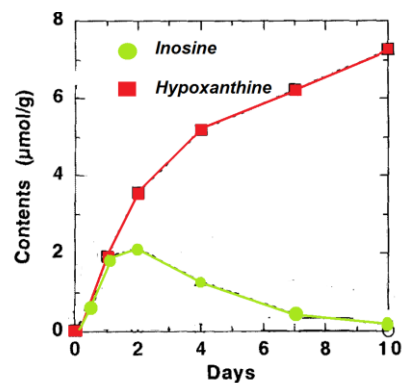
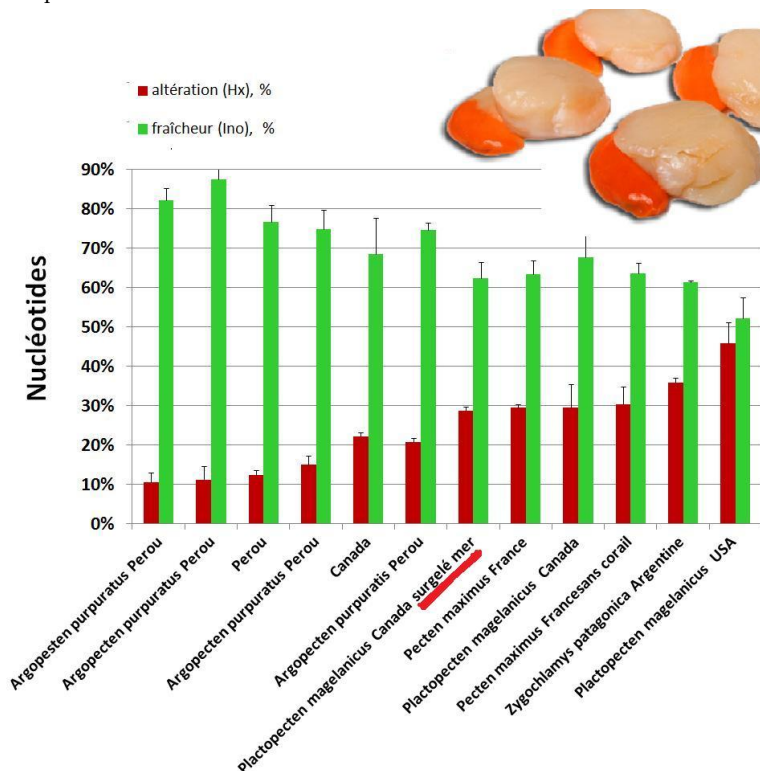
**Sources:** R.K. Kallada, I.Y. Han, J. E. Tole, F. Chen, H.J. Kim, P.L. Dawson, Shelf Life Extension of Shrimp (White) Using Modified Atmosphere Packaging Shelf Life Extension of Shrimp (White) Using Modified Atmosphere Packaging Pol. J. Food Nutr. Sci., 2013, Vol. 63, No. 2, pp. 87-94

Les crevettes tropicales (gambas) sont devenues très populaires du fait essentiellement d'une démocratisation du prix suite à leur élevage en Asie, en Inde et en Amérique du Sud. Comme les autres crevettes, les gambas sont des produits très fragiles, notamment, à cause de présence de viscères. Leur qualité et la fraîcheur dépend de conditions de la pêche, de la vitesse du refroidissement et de la durée de transport. La figure (à gauche) montre que 2 échantillons de gambas sur 9 prélevés en commerce présentent la teneur en IMP de 36,9% et 25,1% (produit sauvage et marque "discount") significativement en dessous de moyenne de 53,3%. Ces résultats montrent également que chez les crustacés l'inosine pourrait constituer un meilleur indicateur de phases précoces de l'altération que l'hypoxanthine.



## 5) Noix de Saint Jacques surgelées

La dégradation de l'ATP dans la chair de mollusques dépourvue d'enzyme AMP-déaminase, permettant la conversion rapide de l'AMP en IMP, passe non par la formation de l'IMP mais par celle de l'adénosine qui est dégradé en inosine, puis hypoxanthine (Saito *et al* Nature 1958). Ainsi, pour les mollusques, l'accumulation de l'hypoxanthine est considérée comme indicateur de perte de la fraîcheur alors que le taux de l'inosine indique la fraîcheur préservée.



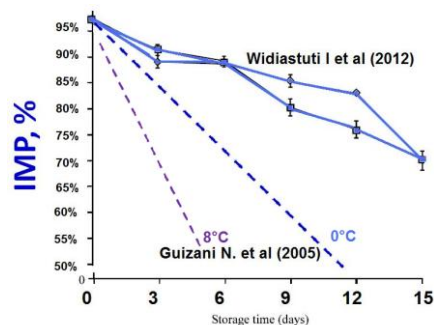
So

Kawai F, Kanamori M (1994) Postmortem Changes of ATP and Its Related Compounds and Freshness Indices in Spear Squid *Doryteuthis bleekeri* Muscles. Fisheries science 60(5), 583-587; Saito, T, Arai, K.I. and Tanaka, T. (1958) Changes in adenine nucleotides in squid muscle Nature 181: 127-128

L'analyse de 12 échantillons de noix de Saint Jacques commercialisés surgelés a démontré que leur teneur en hypoxanthine varie de 10,5% à 45,9%. Contrairement aux résultats obtenus avec les cabillauds surgelé bord, les noix Saint-Jacques "surgelé en mer" ne présente pas la fraîcheur exceptionnelle (le taux de l'hypoxanthine est de 28,7%).

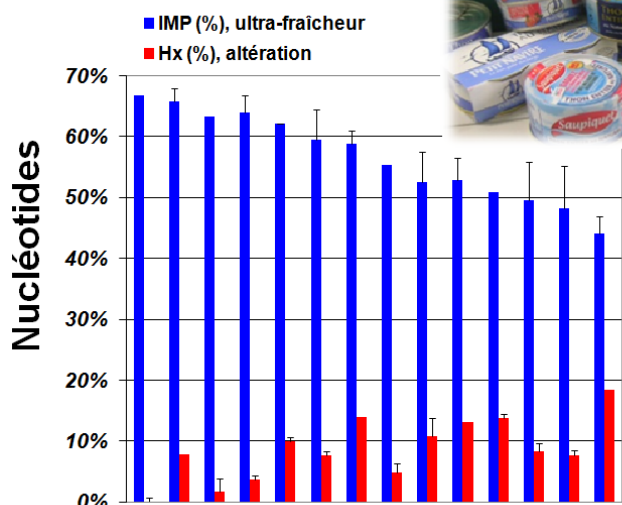
## 6) Conserves de thon

La dégradation de l'IMP dans la chair de thon albacore est linéaire avec le temps de conservation et dépend de la température d'entreposage (Guizani N., *et al* 2005). Conservé à 0°C, la chair de thon albacore perd en 12 jours 50% de l'IMP, et à 8°C seulement en 5 jours.

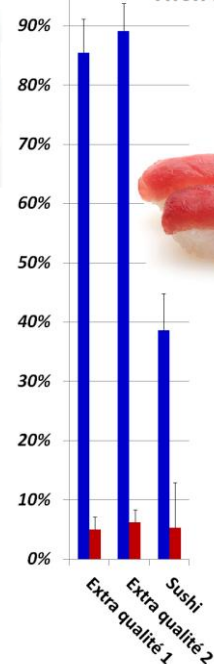


Al-Belushi I.M., Mothershaw A., Rahman M.S. (2005) The effect of storage temperature on histamine production and the freshness of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) Food Research International, Vol. 38 (2), p. 215-222.

### Thon albacore en conserves



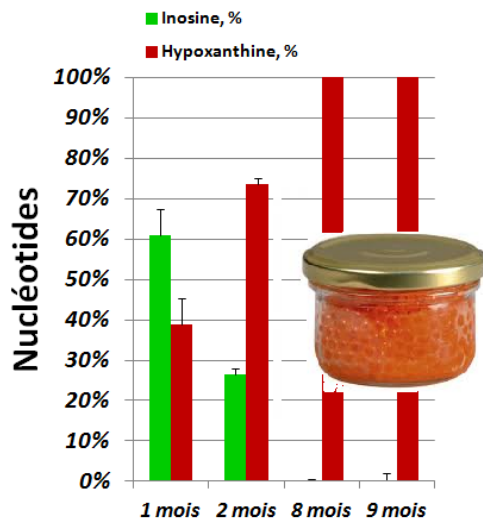
### Thon rouge



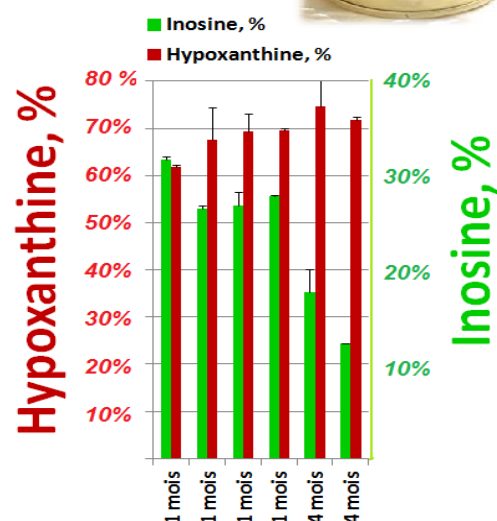
La cuisson inactive les enzymes de la chair et arrête tous les processus de dégradation. Les nucléotides sont des composés résistants à la chaleur, ainsi, leur taux reflète la fraîcheur de thon lors de sa cuisson. Selon nos résultats, la teneur en IMP de thon albacore en boîte varie de 39,5% à 66,8%. Cet analyse permet de mettre en valeur des produits de haute gamme (IMP >60%) et aussi identifier les produits ayant <45-50% de l'IMP et, par conséquent, présentant le risque accru de la présence de l'histamine.

## Autres:

### 7) Durée de conservation - Oeufs de truite et caviar

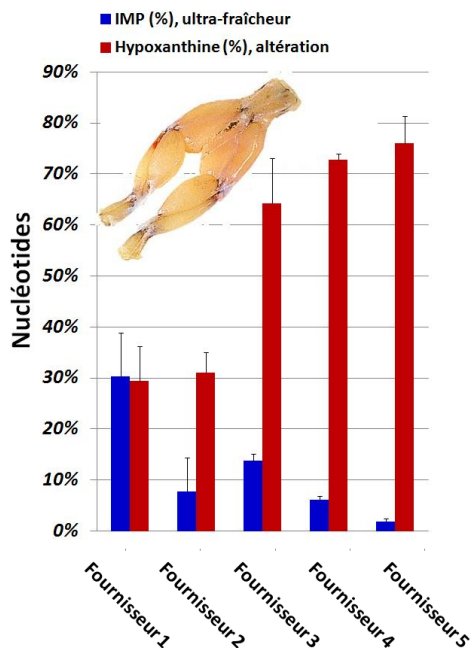


Temps de conservation à 7°C

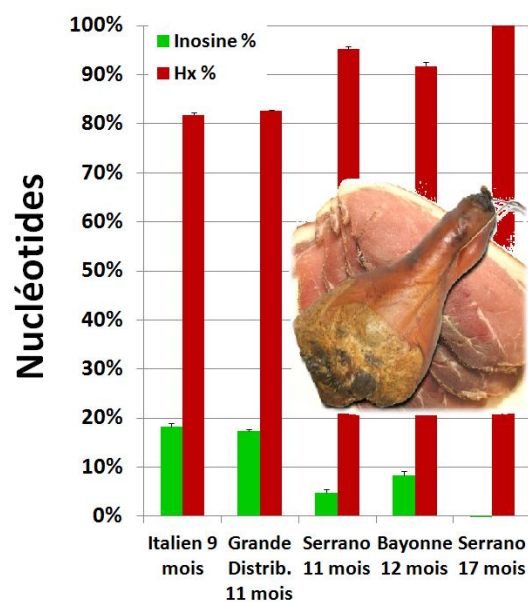


Temps de conservation sur glace

### 8) Cuisses de grenouilles surgelées



### 9) Temps de maturation de jambon cru



Source: Escudero E, Mora L, Aristoy MC, Toldrá F. Possible biological markers of the time of processing of dry-cured ham. Meat Sci. 2011 Dec;89(4):536-9.



NovoCIB est un start-up de biotechnologie lyonnais spécialisé en fabrication des enzymes naturellement rares, sous forme recombinante (créée en 2005). La société est Double lauréate du Concours National d'Aide à la Création d'Entreprises Innovante (prix Émergence et Création, en 2003 et 2005) et Lauréate du Tremplin d'Entreprise organisé par le Sénat en 2004. En 2011, Larissa BALAKIREVA, la fondatrice et présidente de la société, a reçu Trophée de Femme en Or (Femme d'Innovation)

