

THESE DE DOCTORAT

ONIRIS

DELIVREE CONJOINTEMENT AVEC L'UNIVERSITE DE NANTES

COMUE UNIVERSITE BRETAGNE LOIRE

ECOLE DOCTORALE N° 602

Sciences pour l'Ingénieur

Spécialité : *Génie des procédés et Bioprocédés*

Par

Anja Muriel RAKOTONDRAMAVO

Procédé innovant de stabilisation du jambon cuit combinant hautes pressions et biopréservation

Thèse présentée et soutenue à ONIRIS, le 05 Février 2019

Unité de recherche : GEPEA UMR CNRS 6144

Rapporteurs:

Laetitia PICART-PALMADE, Maître de conférences, IATE, Université de Montpellier
Thierry ASTRUC, Ingénieur de recherche, QuaPA-INRA, Saint-Genès Champanelle

Composition du Jury :

Examineurs : Jean-Marie PERRIER-CORNET, Professeur, PAM, AgroSup Dijon
Thierry SEROT, Professeur, GEPEA, ONIRIS, Nantes
Directrice de thèse : Marie de LAMBALLERIE, Professeur, GEPEA, ONIRIS, Nantes
Co-encadrante de thèse : Laurence POTTIER, Maître de conférences, GEPEA, ONIRIS, Nantes

REMERCIEMENTS

Le travail présenté dans ce mémoire, financé par l'Agence Nationale de la Recherche, a été réalisé à Oniris au sein du laboratoire GEPEA.

Mes premiers remerciements s'adressent à mes encadrantes, le Professeur Marie de Lamballerie et le Docteur Laurence Pottier, qui m'ont offert l'opportunité de réaliser cette fabuleuse aventure. Je tiens à les remercier pour leur confiance qui m'a continuellement portée vers l'avant durant cette thèse.

Marie, milles fois merci pour le temps que tu m'as accordé, pour tes qualités pédagogiques et scientifiques, pour ta franchise et ta bienveillance. Ton soutien moral m'a permis de « tenir le coup ». J'ai beaucoup appris et progressé à tes côtés et je t'adresse toute ma gratitude pour tout cela.

Laurence, je te remercie énormément pour ta disponibilité, ton investissement et ton soutien durant les moments difficiles de cette thèse. Ta positivité et ton optimisme m'ont poussée à toujours me dépasser et à voir le bon côté des choses.

Je tiens à remercier tous les membres de mon jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à ces travaux : le Docteur Laetitia Palmade et le Docteur Thierry Astruc pour avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse, ainsi que le Professeur Thierry Serot et le Professeur Jean-Marie Perrier-Cornet d'avoir examiné l'ensemble de mes travaux.

Je remercie aussi les membres de mon comité de thèse, le Docteur Hélène Simonin pour ses conseils sur l'avancée de ce projet, et le Docteur Florence Texier pour ses conseils avisés notamment pour la réalisation des analyses sensorielles.

J'exprime toute ma reconnaissance au Docteur Monique Zagorec, qui m'a initiée à la microbiologie et à la biologie moléculaire. J'ai apprécié nos échanges. Merci pour ton investissement, ta rigueur et ta sympathie.

Merci au Docteur Anne Meynier pour ses conseils avisés et pointus sur l'oxydation des lipides.

Un énorme merci également à Lucie Ribourg d'avoir pris de son temps pour m'aider dans les dosages de TBARS et de MDA. Ce fût un plaisir de travailler avec toi.

Je voudrais aussi remercier tous les membres de l'équipe du GPA. Plus particulièrement, Anthony, Merci pour les essais de pression ; Claire, Merci pour ton aide et tes conseils sur les différentes analyses tout au long de ces 3 années ; Anne, Un grand merci pour ta gentillesse et ta bonne humeur mais aussi pour ton aide pour les interminables procédures administratives.

Je tiens aussi à remercier Christian dont le stage a permis une grande avancée sur l'étude des protéines. Merci pour ton investissement et la rigueur de ton travail.

Un grand merci à Valentin. Ton aide a été précieuse pour la réalisation des PCR. Merci pour les échanges et les discussions scientifiques et non scientifiques. Mais bon, je n'aime toujours pas Docteur Who désolé ! Cette dernière année de thèse a été plus fun grâce à toi.

Une pensée aussi pour mes copains de thèse, Clarissa, Chloé, Julian, Agathe, Joran et Adrien ; ainsi que pour Docteur Mathieu Sadot et Docteur Mirian Kubo ☺. Une mention spéciale pour ma « louloute » Doina, Merci pour ton soutien, ta gentillesse et ton amitié sincère depuis nos années de Master ; pour Cécilia,

merci de m'avoir montré les rouages de la thèse, merci pour les fous rires et les grandes discussions « de filles » ; pour Gina, merci de m'avoir initiée à mes premières manip et à la fabrication du jambon, tu as été une véritable inspiration. J'espère vous revoir tous.

Je tiens à remercier ma sœur de cœur Murielle. Merci d'être toujours là, de me suivre même jusqu'à Madagascar, de m'encourager, de me gronder quand il le faut.

Je remercie Hanta, Christophe, Maël, Pole, Marie et Enora. Merci de m'avoir accueillie dans votre famille et dans la grande famille Biays. Sans vous je n'aurais pas pu continuer mes études en France.

Puisque l'on garde toujours le meilleur pour la fin, un grand merci à mes parents qui m'ont toujours soutenue et cela malgré la distance. Sans eux, je n'aurais jamais pu réaliser ce parcours, tant par leur soutien moral mais également financier. Merci pour votre amour immense, tous vos encouragements et pour m'avoir suivie dans mes choix. Une tendre pensée aussi pour ma petite sœur, mon âme sœur, Coralie. Merci pour ces nombreux appels et messages pour me remonter le moral quand il fallait. Tu es la meilleure !

Enfin, je remercie du fond de mon cœur Harintsoa. Ces années n'auraient pas été pareilles sans toi. Merci pour ta patience à mon égard, pour ton soutien dans mes choix et dans les moments difficiles.

...A TOUS, MANKASITRAKA !

ABREVIATIONS, SYMBOLES ET ACRONYMES

ΔH : Enthalpie de dénaturation

ΔV : Variation de volume

a^* : Indice de rouge

AA : acide aminé

ADNr : Acide DésoxyriboNucléique ribosomique

AFNOR : Agence Française de Normalisation

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

AMSA : American Meat Science Association

ANR : Agence National de la Recherche

ANSES : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire, de l'Alimentation, de l'Environnement et du travail

ATP : Adénosine TriPhosphate

A_w : Activité de l'eau

b^* : Indice de jaune

BLacHP : Bactéries Lactiques Hautes Pressions

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer

CTCPA : Centre Technique de la Conservation des Produits Agricoles

DNPH : 2,4-DiNitroPhenylHydrazine

DTNB : 5,5' dithiobis-2-nitrobenzoïque

EFFCA: European Food & Feed Cultures Association

EFSA: European Food Safety Authority

FAO: Food an Agricultural Organization of the United Nations

FDA : Food & Drug Administration

FICT : Fédération Française des Industriels Charcutiers Traiteurs

GRAS: Generally Recognized As Safe

HHE: 4-hydroxy-2-hexenal

HNE: 4-Hydroxy-2-nonenal

HPLC: High Pressure Liquid Chromatography

IFIP : Institut Français du Porc

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

InVS : Institut de Veille Sanitaire

ISO : Organisation Internationale de Normalisation

L^* : Indice de clarté

L-DOPA : L-dihydrophénylalanine

L-TOPA : L-trihydrophénylalanine

MDA : malondialdéhyde

MPa : Unité de pression (Méga-Pascal)

NaCl : Chlorure de Sodium

NO : Oxyde Nitrique

NOC : Composé N-nitrosé

pH : Potentiel hydrogène

pI: Point isoélectrique

QPS: Qualified Presumption of safety

SDS-PAGE : Sodium Dodecyl Sulfate Poly-Acrylamide Gel Electrophoresis

TBARS : Composés réagissant avec l'acide 2- thiobarbiturique

TEP : 1,1,3,3-tetra-éthoxypropane

TIAC : Toxi-Infection Alimentaire Collective

UFC : Unité Formant Colonie

UMR SECALIM : Unité Mixte de Recherche SECurité des ALiments et Microbiologie

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	5
I. LA TECHNOLOGIE DES PRODUITS CARNES : EXEMPLE DU JAMBON	
CUIT.....	5
I.1. Définition du jambon cuit	5
I.2. Contexte économique	5
I.3. Procédé de fabrication	6
I.3.1. La matière carnée de base	6
I.3.2. La préparation de la viande	7
I.3.3. Le saumurage	7
a. Les ingrédients de la saumure.....	8
b. Les techniques de saumurage	9
I.3.4. Le malaxage	9
I.3.5. La cuisson	10
I.3.6. Le refroidissement	10
I.4. Caractéristiques nutritionnelles du jambon cuit	10
I.5. La problématique liée aux nitrites	11
I.5.1. La réglementation sur les nitrites	11
I.5.2. Les risques liés aux nitrites	11
I.6. Les modifications structurales et chimiques au cours de la fabrication des produits carnés.....	12
I.6.1. Modifications au niveau des protéines	13
a. Structure et composition des protéines	13
b. La dénaturation protéique	15
c. L'agrégation protéique	17
I.6.2. Les phénomènes d'oxydation	19
a. Oxydation des lipides	19
b. Oxydation des protéines	21
 II. LE TRAITEMENT PAR HAUTES PRESSIONS DES PRODUITS ALIMENTAIRES	 23
II.1. La technologie des hautes pressions	23
II.1.1. Principe du traitement	23
II.1.2. Description de l'équipement et du process	24
II.2. Effet des hautes pressions sur la biochimie des aliments	25

II.2.1. Effet des hautes pressions sur l'eau	25
II.2.2. Effet des hautes pressions sur les glucides et polysaccharides	26
II.2.3. Effet des hautes pressions sur les lipides	27
II.2.4. Effet des hautes pressions sur les protéines et acides aminés	27
II.3. Effet des hautes pressions sur les micronutriments	29
II.4. Effet des hautes pressions sur la microbiologie des aliments	29
II.4.1. Effet des hautes pressions sur les bactéries	30
II.4.2. Effet des hautes pressions sur les spores bactériennes	30
II.4.3. Effet des hautes pressions sur les autres microorganismes	31
II.5. Application des hautes pressions sur les produits carnés	31
II.5.1. Impact des hautes pressions sur la microbiologie des produits carnés	32
a. Impact sur la flore d'altération des produits carnés	32
b. Impact sur les bactéries pathogènes des produits carnés	32
II.5.2. Impact des hautes pressions sur la qualité des produits carnés	35
a. Impact sur la couleur	35
b. Impact sur la texture	36
c. Impact sur les phénomènes d'oxydation	37
II.6. Règlementation relative à l'utilisation des hautes pressions sur les produits alimentaires.....	38
III. LA BIOPRÉSERVATION DES PRODUITS CARNES	39
III.1. Microbiologie des produits carnés	39
III.1.1. La flore d'altération	39
III.1.2. Les microorganismes pathogènes	40
III.2. Principe de la biopréservation	42
III.3. La biopréservation par les bactéries lactiques	42
III.3.1. Les mécanismes antimicrobiens des bactéries lactiques	43
a. La compétition nutritionnelle et pour l'espace	43
b. La production de métabolites possédant des propriétés antimicrobiennes.....	43
III.3.2. Application de la biopréservation pour la conservation des produits carnés	46
a. Utilisation de la bactérie productrice de métabolites antimicrobiens	46
b. Utilisation de la bactériocine	46
c. Incorporation de la bactériocine au packaging	47
III.4. Combinaison de la biopréservation et du traitement par hautes pressions sur les produits carnés.....	50
III.5. Règlementation concernant l'utilisation des flores protectrices dans les aliments	51

PARTIE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES	53
I. Sélection des souches de biopréservation	53
II. Fabrication du jambon cuit	53
II.1. Matière première	53
II.2. La fabrication du jambon cuit	54
II.3. Le protocole de biopréservation	56
II.4. Le traitement par hautes pressions	56
III. Analyses microbiologiques du jambon cuit	57
III.1. Dénombrement de la flore endogène	57
III.2. Identification des colonies dénombrées	58
III.2.1. Isolement des colonies sur membrane FTA	58
III.2.2. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)	58
a. Principe	58
b. Mode opératoire	59
III.2.3. Vérification de la PCR par électrophorèse	60
III.2.4. Séquençage	60
a. Principe	60
b. Les étapes du séquençage	61
c. Identification des séquences	64
IV. Analyses des propriétés physiques	64
IV.1. Stockage et préparation des échantillons	64
IV.2. Mesure du pH	64
IV.3. Mesure de la teneur en eau	64
IV.4. Mesure de la CRE	64
IV.5. Mesure de l'exsudation	65
IV.6. Mesure de la couleur	65
IV.7. Mesure de la texture	66
V. Analyse des propriétés chimiques	67
V.1. Dosage du fer libre	67
V.2. Analyses de l'oxydation des lipides	68
V.2.1. Dosage des TBARS	68
V.2.2. Dosage du MDA par HPLC	70
V.2.3. Peroxydation stimulée des lipides	71
V.3. Analyse des protéines	72
V.3.1. Extraction des protéines	72
V.3.2. Dosage des protéines	72
V.3.3. Solubilité des protéines	72

V.3.4. Dénaturation des protéines	72
a. Principe de la mesure	73
b. Mode opératoire	74
V.3.5. Analyse de l'oxydation des protéines	74
a. Dosage des composés carbonylés	74
b. Dosage des thiols	76
V.3.6. Évaluation de la digestibilité des protéines du jambon cuit	77
a. Mode opératoire	77
b. Détermination des paramètres de la digestion <i>in vitro</i>	78
V.3.7. Électrophorèse	79
VI. Évaluation sensorielle	80
VI.1. Principe de la méthode	80
VI.2. Mode opératoire	80
VII. Traitement statistique	81
PARTIE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	83
I. EFFET DES HAUTES PRESSIONS ET DE LA BIOPRÉSERVATION SUR L'ACCEPTABILITÉ MICROBIOLOGIQUE ET SENSORIELLE DU JAMBON CUIT SUPÉRIEUR.....	83
I.1. Acceptabilité microbiologique du jambon cuit traité par hautes pressions et biopréservé.....	83
I.1.1. Evolution de la flore endogène au cours d'un vieillissement accéléré	84
a. Bactéries aérobies mésophiles	84
b. Bactéries lactiques	85
I.1.2. Evolution de la flore aérobie mésophile au cours du stockage à 4 °C	86
I.1.3. Identification des microorganismes dénombrés	86
I.2. Analyse sensorielle olfactive du jambon cuit	87
I.3. Discussion et conclusion sur l'acceptabilité microbiologique et l'analyse sensorielle olfactive du jambon cuit	90
II. EFFET DES HAUTES PRESSIONS ET DE LA BIOPRÉSERVATION SUR LES PROPRIÉTÉS TECHNOLOGIQUES DU JAMBON CUIT SUPÉRIEUR	92
II.1. pH du jambon cuit	93
II.2. Capacité de rétention d'eau du jambon cuit	94
II.3. Exsudation du jambon cuit	95
II.4. Couleur du jambon cuit	96

II.5. Texture du jambon cuit	98
II.5.1. Dureté du jambon cuit.....	98
II.5.2. Cohésion du jambon cuit	99
II.6. Discussion et conclusion sur les propriétés technologiques du jambon cuit	100
III. EFFET DES HAUTES PRESSIONS ET DE LA BIOPRÉSERVATION SUR LES PROPRIÉTÉS NUTRITIONNELLES DU JAMBON CUIT SUPÉRIEUR	103
II.1. Effet des hautes pressions, de la biopréservation et du traitement combiné sur l'oxydation des lipides du jambon cuit	103
III.1.1. Teneur en TBARS et en MDA du jambon cuit	104
a. Évolution de la teneur en TBARS et MDA du jambon cuit au cours du stockage réfrigéré	105
b. Effet de la pression sur les teneurs en TBARS et MDA du jambon cuit	105
c. Effet de la biopréservation sur les teneurs en TBARS et MDA du jambon cuit	107
d. Effet du traitement combiné 'biopréservation-hautes pressions' sur les teneurs en TBARS et MDA du jambon cuit	108
II.1.2. Teneur en fer libre du jambon cuit	110
III.1.3. Peroxydation stimulée des lipides du jambon cuit	111
III.1.4. Conclusion sur l'effet des traitements sur l'oxydation des lipides	114
III.2. Effet des hautes pressions de la biopréservation et du traitement combiné sur les protéines du jambon cuit	115
III.2.1. Solubilité des protéines du jambon cuit	115
a. Effet du procédé sur la solubilité des protéines	115
b. Évolution de la solubilité des protéines au cours du stockage	116
II.2.2. Dénaturation des protéines du jambon cuit	117
a. Effet du procédé sur l'enthalpie de dénaturation totale	117
b. Évolution de l'enthalpie de dénaturation totale au cours du stockage	119
c. Effet du procédé sur les températures de dénaturation des protéines	119
II.2.3. Profil électrophorétique des protéines	123
III.2.4. Conclusion sur l'état de dénaturation des protéines	124
III.2.5. Oxydation des protéines du jambon cuit	126
a. Teneur en composés carbonylés	126
b. Teneur en thiols	128
b.1. Effet du procédé sur la teneur en thiols du jambon cuit	128
b.2. Évolution de la teneur en thiols au cours du stockage du jambon cuit.....	129
II.2.6. Conclusion et discussion sur l'oxydation des protéines du jambon cuit	133

II.3. Digestibilité des protéines du jambon cuit	135
III.3.1. Effet du procédé sur la digestibilité des protéines du jambon cuit	136
a. Digestion gastrique	136
b. Digestion intestinale	138
c. Profil électrophorétique des digestats	138
II.3.2. Évolution de la digestibilité au cours du stockage	140
III.3.3. Conclusion sur la digestibilité des protéines	141
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	145
Références bibliographiques	149
Valorisation des travaux de thèse	175
Annexes	177

INTRODUCTION

De nos jours, le consommateur accorde beaucoup d'attention à la relation entre l'alimentation et la santé. Bien que l'industrie alimentaire ait de plus en plus tendance à produire des aliments répondant à des normes organoleptiques élevées, ayant une longue durée de conservation et des valeurs nutritionnelles appropriées, les consommateurs ont de plus en plus tendance à préférer les aliments ayant subi des traitements technologiques moins radicaux, préparés avec peu ou sans additifs chimiques et à faible teneur en sucres, sels et matières grasses. En conséquence, le marché des aliments ayant des propriétés bénéfiques pour la santé, les aliments dits fonctionnels, ainsi que les aliments « clean label » ont connu une croissance remarquable au cours des dernières années.

Paradoxalement, cette demande d'aliments plus « naturels et diététiques » peut avoir des conséquences importantes sur le développement de la flore microbienne et donc sur la conservation de ces aliments. De plus, l'inconvénient de ces tendances est que les obstacles à la sécurité sont atténués et que les éclosions de maladies d'origine alimentaire peuvent augmenter. En effet, les additifs sont nécessaires pour assurer la stabilité et la sécurité microbiologique ainsi que pour améliorer les propriétés organoleptiques.

Dans l'industrie de la viande, les préconisations nutritionnelles actuelles, appuyées par une volonté réglementaire, visent à réduire les niveaux de nitrite de sodium dans les charcuteries. Des concentrations supérieures à 150 ppm de nitrite de sodium ne sont pas autorisées dans les produits à base de viande en raison des risques pour la santé humaine et l'environnement (Sindelar & Milkowski, 2011). Le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) a classé les nitrates ou nitrites dans la catégorie 2 – « probablement cancérigènes pour l'homme ». Plus précisément, les nitrates et nitrites ingérés dans des conditions entraînant une nitrosation endogène sont probablement cancérigènes pour l'homme à cause de la formation de nitrosamines ou encore appelés composés N-nitrosés (NOC) qui sont des substances potentiellement cancérigènes (Grosse *et al.*, 2006). De plus, le CIRC a classé la consommation de viande transformée comme « cancérigène pour l'homme » (catégorie 1) (Bouvard *et al.*, 2015), la formation de nitrosamines cancérigènes constituant un facteur contributif à ce risque (Pierre, 2016). Ces hypothèses ont donc conduit à la recherche de nouvelles technologies pour la substitution des nitrites.

Cependant, le nitrite de sodium est l'additif antimicrobien synthétique généralement ajouté aux produits carnés pour prévenir la germination et la prolifération de *Clostridium botulinum*. De plus, le nitrite de sodium agit en synergie avec le chlorure de sodium en inhibant la flore d'altération et certains autres microorganismes pathogènes. Le nitrite confère également des propriétés sensorielles (couleur, goût et odeur) et antioxydantes aux produits carnés et joue un rôle majeur dans la réduction de la vitesse de développement du rancissement au cours du stockage (Andrée *et al.*, 2010). Il est donc difficile de trouver un seul substitut au nitrite en raison de ses propriétés multifonctionnelles.

Le projet ANR BLacHP vise à développer une nouvelle stratégie de stabilisation des produits carnés transformés et réfrigérés en combinant les hautes pressions et la biopréservation par des bactéries lactiques. Cette stratégie pourrait devenir une alternative à l'ajout de conservateurs tels que les nitrites.

Le traitement par hautes pressions est connu pour améliorer la sécurité microbienne des viandes et produits carnés. Également appelées pasteurisation à froid, les hautes pressions sont présentées comme la principale alternative à la pasteurisation thermique ou comme étape supplémentaire de décontamination des produits carnés emballés (Jofré & Serra, 2016). Les principaux objectifs du procédé par hautes pressions sont de détruire les microorganismes pathogènes et d'altération et de prolonger la durée de conservation, tout en maintenant les caractéristiques et la qualité de la viande et des produits carnés quasiment intacts. Cependant, les hautes pressions ne sont pas efficaces pour la destruction des spores bactériennes, et l'ajout de conservateurs alimentaires (nitrites) est toujours nécessaire dans les produits carnés pour contrôler la croissance des bactéries sporulées. Toutefois, si un traitement par hautes pressions à une température inférieure à 50 °C peut à peine inactiver les spores, des études ont montré que les hautes pressions peuvent initier la germination des spores de *Bacillus sp.* et *Clostridium sp.*

Par ailleurs, l'utilisation de cultures bioprotectrices fonctionnelles dans l'industrie alimentaire est répandue (Leroy & De Vuyst, 2004). Les souches fonctionnelles sont largement utilisées pour la fermentation de produits laitiers, de légumes fermentés et plus récemment les produits carnés. Ces cultures bioprotectrices peuvent contribuer à la sécurité alimentaire et / ou offrir un ou plusieurs avantages organoleptiques, technologiques, nutritionnels ou sanitaires. La mise en œuvre de souches soigneusement sélectionnées en tant que cultures bioprotectrices dans le processus de fabrication des produits carnés représente un moyen de remplacer les additifs chimiques par des composés naturels, tout en fournissant au consommateur de nouveaux produits alimentaires attractifs. Les bactéries lactiques sont reconnues pour avoir un potentiel intéressant pour la biopréservation du fait qu'elles sont capables de produire des substances antimicrobiennes. De plus, les bactéries lactiques sont sans danger pour la consommation humaine et constituent la microflore prédominante de nombreux aliments et en particulier les aliments prêts à consommer stockés sous vide ou sous atmosphère modifiée. La stabilité et la sécurité des produits carnés par l'utilisation de souche bioprotectrice impliquent la création d'un environnement hostile pour les microorganismes indésirables pathogènes et responsables de l'altération tout en maintenant la qualité sensorielle du produit.

Le produit cible choisi pour cette étude est le jambon cuit supérieur à teneur réduite en nitrite. Le jambon cuit représente 25 % en volume de la production de charcuterie en France (FICT, 2017). Par son pH se rapprochant de la neutralité et son Aw élevée, il figure parmi les charcuteries à risque : une post-contamination par des bactéries pathogènes telles que *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* ou *Staphylococcus aureus* peut survenir lors de l'étape de découpe et de conditionnement. De plus, un traitement thermique modéré associé à un stockage réfrigéré sous vide ou sous atmosphère modifiée peut conférer un avantage

sélectif au développement d'espèces psychrotrophes du genre *Clostridium* ou *Bacillus*, responsables de la formation de spores.

Très peu d'études se sont intéressées pour le moment aux effets du traitement combiné hautes pressions – biopréservation par des bactéries lactiques sur les produits carnés. Ainsi, l'objectif principal de ce travail est d'évaluer l'impact du traitement combiné sur les propriétés technologiques, nutritionnelles et organoleptiques du jambon cuit ; et d'évaluer son potentiel d'application sur les produits carnés à teneur réduite en nitrite. Pour une meilleure compréhension des phénomènes pouvant survenir, l'impact de chaque traitement (biopréservation et hautes pressions) appliqué individuellement sur le jambon cuit est également étudié.

Ce mémoire comporte trois parties visant à présenter le contexte de l'étude, la méthodologie utilisée et les résultats obtenus et discutés. La synthèse bibliographique porte, dans un premier temps, sur l'état des connaissances sur la technologie des produits carnés avec comme exemple la fabrication du jambon cuit, ainsi que les modifications structurelles et chimiques qui surviennent au cours de la fabrication. Dans un deuxième temps, les fondamentaux du procédé par hautes pressions ainsi que son application sur les produits carnés sont présentés. Enfin, la biopréservation est abordée en détaillant le principe, le mécanisme antimicrobien des bactéries lactiques et leur application dans les matrices alimentaires.

Les matériels et méthodes détaillent le déroulement des expériences de la fabrication du jambon cuit, passant par les différents traitements appliqués, le stockage réfrigéré, jusqu'aux différentes analyses effectuées. Le principe et le mode opératoire de chaque analyse sont également présentés.

Les résultats et discussion sont scindés en trois parties. D'abord, l'impact du traitement sur l'acceptabilité microbiologique et sensorielle du jambon cuit est évalué. Le développement de la flore endogène est suivi au cours d'un stockage réfrigéré et une analyse sensorielle olfactive est réalisée en parallèle. Ensuite, l'impact des traitements sur les propriétés technologiques (pH, capacité de rétention d'eau, exsudation, couleur et texture) est exposé. Enfin l'impact des traitements sur les propriétés nutritionnelles du jambon cuit est présenté. Notamment, l'oxydation des lipides est estimée en suivant la production de produits secondaires d'oxydation lipidique au cours du stockage réfrigéré. L'état des protéines (solubilité, dénaturation, oxydation, digestibilité) est également évalué au cours de la fabrication et du stockage du jambon cuit biopréservé et/ou pressurisé.

PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. LA TECHNOLOGIE DES PRODUITS CARNES : EXEMPLE DU JAMBON CUIT

I.1. Définition du jambon cuit

Selon le Code des usages de la charcuterie, de la salaison et des conserves de viandes, le jambon cuit est préparé uniquement à partir du membre postérieur du porc, à l'exclusion de tout autre morceau. Sa fabrication est régie par une réglementation très stricte. Il peut contenir d'autres ingrédients tels que des aromates et épices, vins, alcools, liqueurs, sucres et condiments selon les recettes et éventuellement des additifs autorisés par la législation. Il est commercialisé avec ou sans couenne (découenné, dégraissé). Dans le cas d'un jambon cuit avec couenne, l'épaisseur du gras périphérique ne doit pas excéder 4 millimètres. Selon le Code des Usages de la Charcuterie, il existe 3 qualités de jambon cuit :

- Le jambon cuit "supérieur" : il ne contient ni polyphosphate, ni gélifiant, ni plus de 0,5 % de sucres ajoutés (NF V40-100 - 2002).
- Le jambon cuit "choix" : il ne contient pas de gélifiant mais peut contenir jusqu'à 0,2% de polyphosphates et 1% de sucres ajoutés. Dans cette catégorie, on trouve notamment le jambon cuit de Paris (qui peut lui aussi être supérieur).
- Le jambon cuit "standard" : il peut contenir d'autres additifs (gélifiants, plasma sanguin, etc.). Les teneurs autorisées dans le produit fini sont de 0,5% de polyphosphates et 2% de sucres ajoutés.

I.2. Contexte économique

La production industrielle de jambon cuit en France en 2017 est de 245336 tonnes, ce qui représente 20,5 % en tonnage et environ 25 % en valeur de la production de charcuterie. Le tonnage annuel français des différentes qualités de jambon cuit est donné dans le tableau 1. De plus, le jambon cuit est le produit de charcuterie le plus consommé par les ménages français à hauteur de 24 % (Figure 1) (FICT, 2017).

Tableau 1 : Production industrielle française (en tonnes) de jambon cuit en 2017 (FICT, 2017)

	Prétranchés (libre-service)	Entier (coupe)	Surgelés et conserves	Total	Pourcentage
Jambon supérieur	124 495	61 908	813	187 216	76 %
Jambon choix	33 200	8 362	168	41 730	17 %
Jambon standard	4 980	10 508	902	16 390	7 %
Total	162 675	80 778	1 883	245 336	
Pourcentage	66 %	33 %	1 %		

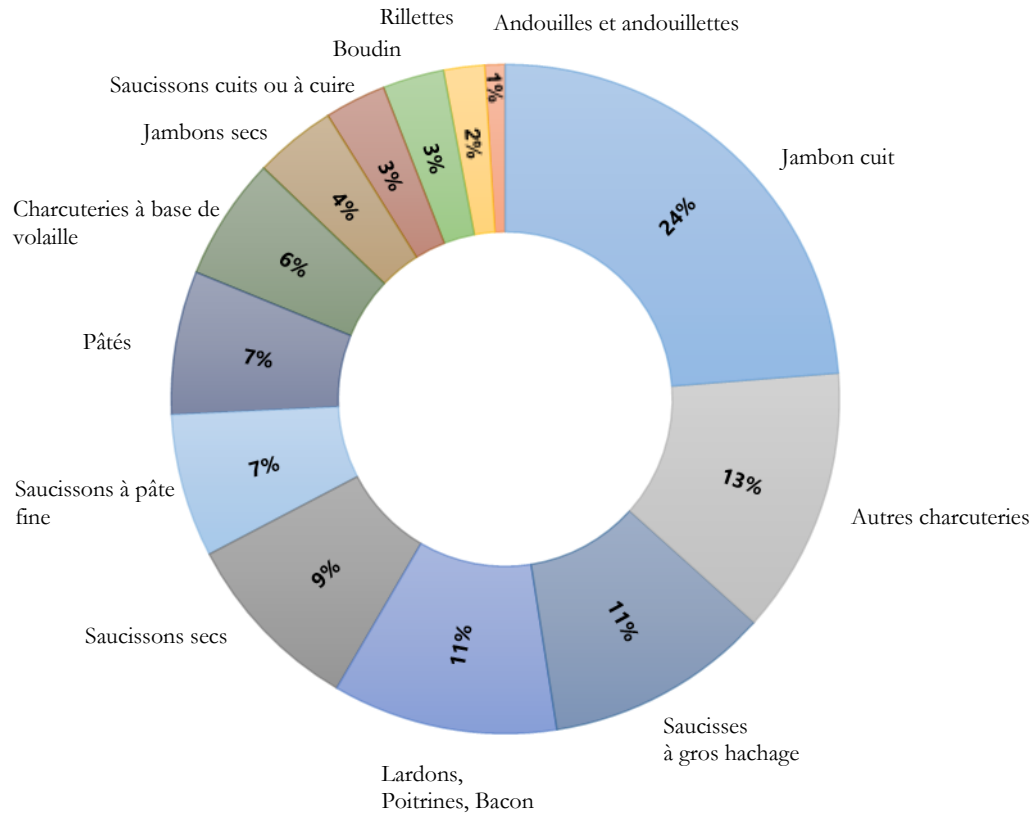


Figure 1 : Achat en charcuterie des ménages français en 2017 (en % de volume) (FICT, 2017)

I.3. Procédé de fabrication

I.3.1. La matière carnée de base

Le jambon est composé d'une trentaine de muscles regroupés en quatre groupes de muscles : noix, noix pâtissière, sous noix et quasi. Le jambon peut être fabriqué à partir de n'importe quelle combinaison de ces quatre groupes de muscles postérieurs (tableau 2). Une coupe superficielle du porc montrant quelques muscles couramment utilisés dans la fabrication de jambon cuit est présentée sur la figure 2.

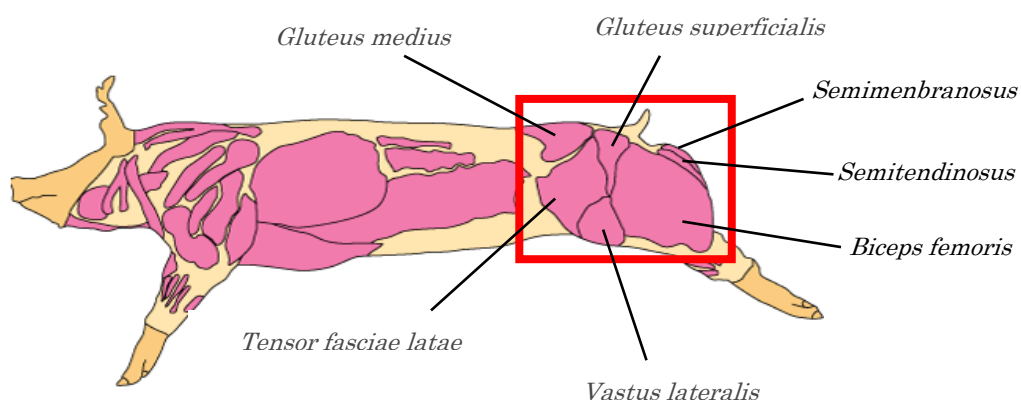


Figure 2 : Quelques principaux muscles du jambon (coupe superficielle) (Porcine myology - porcine.unl.edu)

Tableau 2 : Répartition des différents muscles constituant le jambon dans les pièces anatomiques bouchères (Guintard *et al.*, 2004)

Désignation anatomique	Désignation selon la Nomina Acta Veterina	Désignation bouchère
Pectiné	<i>Musculus pectineus</i>	
Semi-membraneux	<i>M. semimembranosus</i>	
Adducteur de la cuisse	<i>M. adductores</i>	
Sartorius	<i>M. sartorius</i>	Noix
Gracile	<i>M. gracilis</i>	
Obturateur externe (portion extra-pelvienne)	<i>M. obturatorius externus</i>	
Quadriceps fémoral	Droit de la cuisse	<i>M. rectus femoris</i>
	Vaste latéral	<i>M. vastus lateralis</i>
	Vaste médial	<i>M. vastus medialis</i>
	Vaste intermédiaire	<i>M. vastus intermedius</i>
Tenseur du fascia lata	<i>M. tensor fasciae latae</i>	
Semi-tendineux	<i>M. semitendinosus</i>	
Biceps fémoral	<i>M. biceps femoris</i>	
Glutéofémoral	<i>M. glutaefemoralis</i>	
Fessier superficiel	<i>M. gluteus superficialis</i>	Sous noix
Gastrocnémien	<i>M. gastrocnemius</i>	
Fléchisseur	<i>M. flexor</i>	
Fessier moyen	<i>M. gluteus medius</i>	
Fessier accessoire	<i>M. gluteus accesorius</i>	Quasi
Fessier profond	<i>M. gluteus profundus</i>	

I.3.2. La préparation de la viande

La fabrication du jambon commence par l'élimination d'une grande partie de la graisse excédentaire de la pièce de viande crue en raison de la préférence du marché pour les produits moins gras mais également pour permettre une meilleure pénétration de la saumure lors du saumurage et du malaxage (Stankus, 2016).

I.3.3. Le saumurage

Le processus de saumurage de la viande consiste en l'ajout d'un certain nombre d'ingrédients et additifs nécessaires pour obtenir la couleur, la texture et la saveur souhaitées. Ces substances sont dissoutes dans l'eau pour former la saumure. Cette dernière est composée d'eau, de chlorure de sodium, de nitrite de sodium, d'antioxydants, de sucre(s) et d'arômes naturels ou bouillon.

a. Les ingrédients de la saumure

Après l'eau, le chlorure de sodium (le sel) est l'ingrédient principal de la saumure. Le sel est utilisé comme agent de conservation des aliments depuis des milliers d'années. Actuellement, le rôle conservateur du sel est prépondérant dans les produits séchés et maturés (jambons secs, saucissons secs), mais il est devenu un peu plus secondaire dans les produits cuits dont la conservation est principalement assurée par la cuisson, le conditionnement et/ou la maîtrise de la chaîne du froid (Martin, 2003). Les propriétés antimicrobiennes du sel sont basées sur sa capacité à réduire l'activité de l'eau, c'est-à-dire la quantité d'eau libre disponible pour la croissance des microorganismes (Inguglia *et al.*, 2017). Le sel a également un rôle de premier plan dans le développement et la perception des attributs sensoriels tels que la saveur et l'arôme (flaveur) des produits de salaison. Le goût salé est dû aux ions Na^+ et Cl^- libres, donc non liés aux protéines. Pour les produits cuits, le traitement par la chaleur rompt les liaisons salines. De ce fait, tous les ions Na^+ et Cl^- sont libres, donc perceptibles au goût. Pour les produits secs, les liaisons salines sont fortes d'où une perception salée relativement faible malgré une teneur en sel importante (Solignat, 2004 ; Martin, 2003). De plus, l'ajout de sel dans la fabrication des produits carnés (1,5 à 2,5 %) permet de solubiliser les protéines myofibrillaires, d'augmenter la capacité d'hydratation et de rétention d'eau, d'augmenter le rendement de cuisson et diminuer la perte de liquide (Inguglia *et al.*, 2017 ; Albarracín *et al.*, 2011).

Le nitrite, comme le sel, est un ingrédient multifonctionnel dans le saumurage. L'ajout de 50 à 100 ppm de nitrite est suffisant pour atteindre les multiples fonctions du nitrite. Le nitrite est utilisé comme agent conservateur pour ses propriétés antioxydantes, qui stabilisent les lipides insaturés des tissus membranaires et chélatent l'ion ferreux de l'hémoglobine, empêchant ainsi l'oxydation des acides gras polyinsaturés (Honikel, 2008). Le nitrite induit également des propriétés organoleptiques, telles que la couleur et l'arôme, dans les produits de porc cuits. Sous certaines conditions (pH, présence d'oxygène présence d'agents réducteurs comme l'érythrobate), le nitrite forme de l'oxyde nitrique (NO) qui réagit ensuite avec la myoglobine donnant le nitrosomyoglobine (NO-myoglobine). Ce dernier, lors de la cuisson, produit le nitrosohémochrome (NO-hémochrome) (figure 3) qui est le pigment rose typique des produits carnés nitrités et cuits (Honikel, 2008). Le nitrite est également responsable de la note aromatique typique du «jambon cuit», qui permet de distinguer facilement un produit cuit avec nitrite d'un produit cuit sans nitrite (Sindelar & Milkowski, 2011). En plus des fonctions de couleur, de saveur et d'antioxydant, le nitrite est un agent antimicrobien important. Il inhibe fortement les bactéries anaérobies, surtout *Clostridium botulinum*, et contribue au contrôle d'autres microorganismes pathogènes tels que *Listeria monocytogenes* (Sebranek, 2009 ; Pegg *et al.*, 1997).

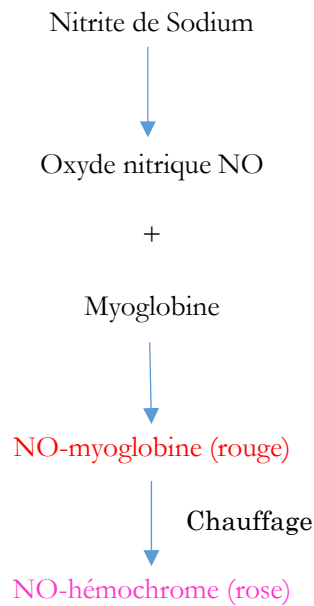


Figure 3 : Formation du pigment rose typique des produits carnés nitrités (adapté de Sebranek, 2009)

b. Les techniques de saumurage

Le saumurage peut être effectué de deux façons (Shahidi *et al.*, 2014) :

- **Par immersion** : dans ce processus, la viande est immergée dans de la saumure jusqu'à ce que les ingrédients pénètrent dans le morceau de viande entier. La vitesse de diffusion des ingrédients dépend fortement de la taille de la coupe, de la quantité de graisse superficielle et de la température. Comme les coupes de viande utilisées peuvent varier en taille et en capacité d'absorption de la saumure, toutes les parties de la viande peuvent ne pas absorber la même quantité de saumure. Ceci est un inconvénient dans l'utilisation de ce processus.
- **Par injection** : cette méthode permet de contrôler la vitesse et le volume d'injection et ainsi obtenir une distribution rapide et uniforme de la saumure. Plusieurs systèmes existent mais le plus utilisé pour le saumurage du jambon est le système multi-aiguille. Le principe consiste à utiliser des aiguilles en acier inoxydable placées à des distances uniformes pour l'injection de la saumure. Le pompage de la saumure est arrêté lorsque le poids désiré est atteint.

I.3.4. Le malaxage

Le malaxage est une opération mécanique encore appelée barattage qui consiste à malaxer ou masser des muscles ou des morceaux de viande destinés à la cuisson dans une machine industrielle appelée baratte. Le principe est de faire tourner la baratte pendant 1 à 24 heures, à raison de plusieurs tours par minute, pour malaxer et mélanger les morceaux ; les pales, qui sont disposées sur la paroi intérieure de la baratte, font remonter ces morceaux jusqu'en haut et ces derniers chutent par gravité sur ceux qui sont présents dans le bas de la cuve. Le malaxage est important pour distribuer la saumure dans les muscles. Ce processus mécanique facilite l'extraction des protéines qui permettent la liaison des morceaux de viande et le

développement de la couleur. Par l'action mécanique, les protéines myofibrillaires salino-solubles sont expulsées hors du muscle et participent à la formation du limon. Le barème de malaxage influence les paramètres technologiques de l'étape de traitement thermique : en effet, la perte de poids à la cuisson diminue avec l'augmentation de la durée de malaxage (Li *et al.*, 2011 ; Lachowicz *et al.*, 2003). De plus, l'alternance de la rotation avec des périodes de repos diminuerait la perte de poids à la cuisson (Li *et al.*, 2011).

I.3.5. La cuisson

L'un des objectifs de la cuisson consiste à éliminer les formes végétatives des microorganismes ; cependant les spores ne sont pas détruites. Pendant le processus de chauffage, la chaleur coagule les protéines musculaires, confère au produit fini sa consistance et sa fermeté, et lie les muscles entre eux. Les enzymes musculaires endogènes telles que les enzymes protéolytiques et lipolytiques sont inhibées et de nouveaux composés se forment qui contribuent à la saveur du produit (Arnau Arboix, 2014). Entre autres, la couleur du jambon passe de la couleur rouge initiale de la viande de porc à la couleur rose finale, typique du jambon cuit, à cause de la nitrosohémochrome qui résulte de la dénaturation de la nitrosomyoglobine par chauffage (figure 3).

I.3.6. Le refroidissement

Le refroidissement est une étape importante pour la qualité globale du produit car il conditionne la tenue de tranche, la qualité bactériologique et le rendement. Au cours du refroidissement, le collagène et les protéines du limon gélifient et assurent la prise en masse des muscles constitutifs du jambon. En industrie, le refroidissement peut être effectué par douchage avec des fluides réfrigérants ou en chambre de réfrigération rapide.

I.4. Caractéristiques nutritionnelles du jambon cuit

La composition nutritionnelle du jambon cuit se caractérise par sa teneur en lipides et en protéines. Les variations de la composition nutritionnelle du jambon cuit sont causées par la grande diversité, d'une part, de la matière première utilisée (principalement le porc, "animal gras à muscle maigre") et d'autre part de la technologie de transformation appliquée. De plus, le caractère gras tend de plus en plus à être remis en cause dans les conditions actuelles de génétique et d'élevage. Cette évolution donne lieu à une grande diversité de valeurs nutritionnelles (Boutten *et al.*, 2006). Pour pouvoir prétendre aux différentes appellations régies par le code des usages de la charcuterie, le jambon cuit doit avoir une composition bien précise (tableau 3).

Tableau 3 : Composition nutritionnelle du jambon cuit (www.lescharcuteries.fr)

	Protéines (g/100 g)	Lipides (g/100 g)	Glucides (g/100 g)	Sel (g/100 g)	Energie (Kcal/100 g)
Jambon cuit « supérieur »	20,8	4,71	0,87	1,77	129
Jambon cuit « choix »	19	3	1,7	2	106
Jambon « standard »	12	7	2,2	2	120

Ainsi, le jambon présente pratiquement tous les avantages des autres viandes rouges dans l'alimentation, avec l'avantage d'être moins gras que la plupart des produits carnés. Le jambon fournit des protéines de haute qualité, complètes et hautement digestibles, et fournit les micronutriments nécessaires au fonctionnement à l'organisme (McNeill & Van Elswyk, 2012).

I.5. La problématique liée aux nitrites

I.5.1. La réglementation sur les nitrites

D'après le Règlement⁴ (UE) N°1129/2011, le nitrite de sodium (E 250), le nitrite de potassium (E 249), le nitrate de sodium (E251) et le nitrate de potassium (E252) sont autorisés en tant qu'additifs alimentaires pour la conservation de certaines préparations à base de viandes, bien qu'ils puissent entraîner la formation de nitrosamines. La dose maximale d'utilisation est réglementée par la directive européenne 95/2/EC concernant les additifs alimentaires autres que les colorants et les édulcorants, modifiée par la directive 2006/52/EC. D'après ces directives, l'ajout de nitrite à hauteur de 100 mg/kg (produits à base de viande stérilisés) à 150 mg/kg est autorisé pour les viandes transformées traitées thermiquement et de 150 mg de nitrite/kg pour celles non traitées thermiquement. En France, le Code des usages de la charcuterie a limité l'utilisation des nitrites de 20 % soit 120 mg maximum/kg. La réglementation européenne pour les produits issus de l'agriculture biologique (règlement CE n°889/2008) prévoit l'utilisation de nitrites et des nitrates à une dose d'incorporation indicative de 80 mg/kg et la quantité maximale résiduelle ne doit pas dépasser 50 mg/kg.

I.5.2. Les risques associés aux nitrites

Le nitrate et le nitrite de la viande transformée sont des sources exogènes de nitrosamines ou composés N-nitrosés (NOC) et des précurseurs de NOC formés de manière endogène, qui sont des cancérrogènes connus (Joosen *et al.*, 2009). Les nitrosamines sont des substances produites essentiellement de façon non-intentionnelle. Ce sont des substances qui peuvent se former par réaction à partir de précurseurs (substrats nitrosables : amines), avec des agents nitrosants comme les nitrites. La formation de nitrosamines dans les produits carnés se produit lorsque les amines réagissent avec les nitrites, dans un environnement acide (tel que l'estomac) ou lorsqu'ils sont chauffés à des températures très élevées (ce qui se produit lors de la friture du bacon par exemple) (Parthasarathy & Bryan, 2012).

Des études ont montré une association significative entre les NOC et le risque de cancer colorectal et plus particulièrement le risque de cancer du rectum (Zhu *et al.*, 2014 ; Loh *et al.*, 2011). Les données épidémiologiques et expérimentales mettent clairement en avant l'implication du fer héminique dans la cancérogenèse colorectale induite par la consommation de produits carnés. Cependant, les mécanismes sont mal compris. L'hème, dans la lumière intestinale, catalyse deux types de réactions : la lipopéroxydation et la formation de NOC. De plus, l'hème peut avoir un effet direct sur les cellules de la muqueuse. Un schéma représentant les différents mécanismes d'action est présenté sur la figure 4.

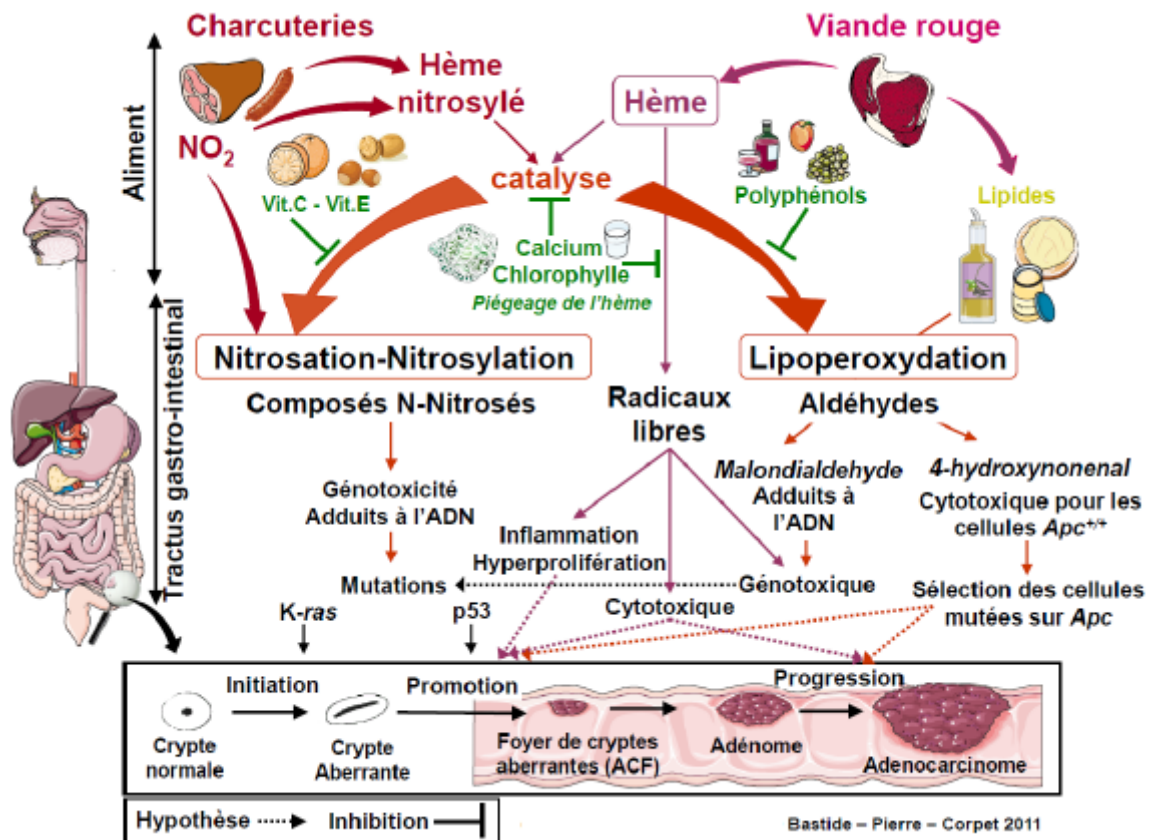


Figure 4 : Mécanismes d'action pouvant expliquer l'effet promoteur du cancer coloréctal du fer hémique (Bastide *et al.*, 2011)

I.6. Les modifications structurales et chimiques au cours de la fabrication des produits carnés

La viande subit généralement un ou plusieurs traitements technologiques avant d'être consommée : un traitement mécanique tel que le hachage, qui consiste à déstructurer le produit puis à le réassembler, un traitement chimique par l'action de solutés (sels, acides, épices, etc.) modifiera la structure et la composition du tissu, un traitement thermique tel que la cuisson, dont les effets varient en fonction de la température et de la durée (Santé-Lhoutellier *et al.*, 2013) ; ou des traitements non thermiques, tels que les hautes pressions, utilisés comme méthode de conservation post-traitement (Garriga *et al.*, 2004). Ces traitements peuvent jouer un rôle important dans l'apparition des processus d'oxydation, de dénaturation et d'agrégation, car ils affectent non seulement les propriétés structurales de la viande, mais également les états physiques et chimiques des protéines de la viande et la biodisponibilité des acides aminés.

I.6.1. Modification au niveau des protéines

Le rôle des protéines dans la viande est double. D'une part, elles contiennent tous les acides aminés essentiels dont le profil de composition est très proche de celui du corps humain et sont donc très nutritives (Rémond & Duchène, 2014). D'autre part, en conférant des fonctionnalités spécifiques (gélification, émulsification, rétention d'eau, etc.), les protéines musculaires contribuent grandement aux propriétés globales de la viande et des produits à base de viande (viande rouge, volaille et poisson), y compris la texture, l'apparence, la sensation en bouche et la jutosité, ainsi que la stabilité physique pendant le stockage (Xiong, 2018). La transformation des aliments en général, et notamment de la viande, a donc des effets différents sur la structure et les propriétés physico-chimiques des protéines qui modulent leur fonctionnalité.

a. Structure et composition des protéines de la viande

Les protéines sont les principaux constituants du muscle et représentent environ 20 % du poids total du muscle. Les protéines musculaires sont divisées en trois groupes (Tornberg, 2005) :

- Les protéines myofibrillaires (50 - 55 %) sont constituées des protéines contractiles, structurelles et régulatrices qui sont présentées dans le tableau 4. La myosine et l'actine sont les protéines majoritaires des protéines myofibrillaires (environ 70 %). Les molécules de myosine forment les filaments épais et l'actine les filaments minces des fibres musculaires. Les protéines myofibrillaires sont solubles dans une solution à force ionique élevée ($> 0,3$).
- Les protéines sarcoplasmiques (30 – 34 %) comprennent le pigment de l'hème (myoglobine), les enzymes glycolytiques (glycéraldéhyde phosphate déshydrogénase), les enzymes mitochondriales (telles que la succinate déshydrogénase, le cytochrome), les enzymes lysosomales (notamment la cathépsine), les nucléoprotéines, etc. Parmi celles-ci figurent les enzymes protéolytiques (cathépsine, calpaïne, les enzymes glycolytiques, ...) qui, avant d'être dénaturées, sont impliquées dans le processus d'attendrissage musculaire post-mortem et la myoglobine, responsable de la couleur de la viande (Ertbjerg *et al.*, 2012). Les protéines sarcoplasmiques sont solubles dans l'eau ou dans une solution à force ionique faible.
- Les protéines du tissu conjonctif (10 – 15 %) : Le tissu conjonctif est composé principalement de collagène (90 % du tissu conjonctif) et d'autres protéines fibreuses, notamment l'élastine, la laminine et la fibronectine, ainsi que de protéoglycanes.

Tableau 4 : Composition et poids moléculaire des principales protéines myofibrillaires (Boland *et al.*, 2018, Pearson & Young, 1989)

		Pourcentage des protéines myofibrillaires	Poids moléculaire (kDa)
Protéines contractiles	Myosine	50	500
	Actine	20	42
Protéines régulatrices	Tropomyosine	3	65
	Troponine C	1,15	18
	Troponine I	1,35	21
	Troponine T	1,95	31
Protéines structurales	Titine	5 - 8	2800
	Nebuline	3	800
	α -Actinine	1	95
	β -Actinine		
	- Sous-unité α	< 0,01	37
	- Sous-unité β	< 0,01	34
	Desmine	< 0,2	55
	Filamine	0,1	300
	Protéine C	1,5	140
	Protéine H	0,18	58
Protéine M	0,5	185	

Quatre niveaux d'organisation hiérarchique sont utilisés pour décrire la structure ou l'architecture des protéines (Figure 5) : la structure primaire qui fait référence à la séquence ordonnée d'acides aminés composant la chaîne protéique; la structure secondaire qui décrit les conformations locales régulières du squelette polypeptidique ; la structure tertiaire qui décrit le repliement tridimensionnel global de la protéine et fournit le schéma complet de repliement des structures primaire et secondaire, qui détermine la taille et la forme finales de la molécule de protéine ; et enfin la structure quaternaire qui fait référence à la quatrième dimension du niveau de structure des complexes protéiques pouvant résulter de l'association de chaînes polypeptidiques identiques ou hétérogènes (Li-Chan & Lacroix, 2018).

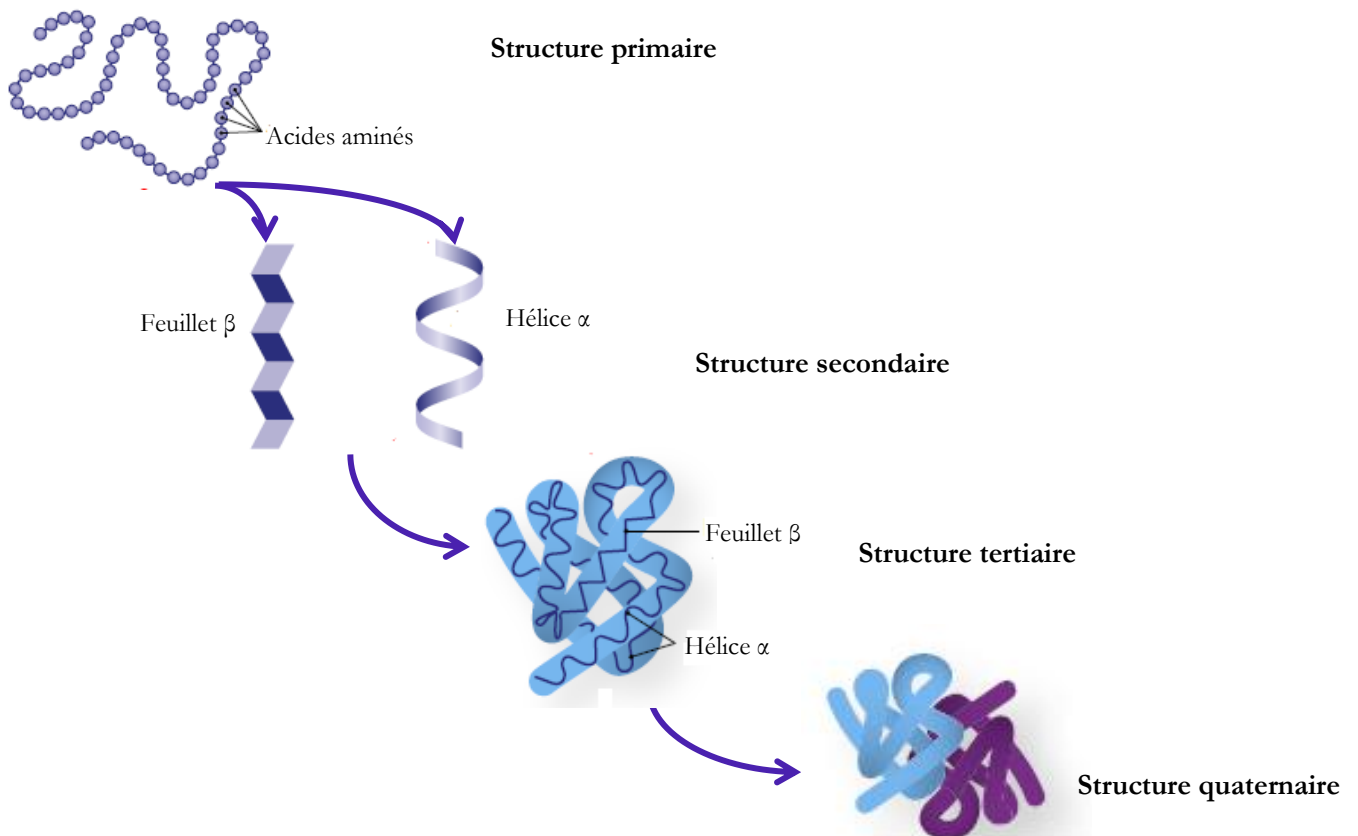


Figure 5 : Organisation structurale des protéines (Haque, Timilsena & Adhikari, 2016)

b. La dénaturation protéique

Le terme « dénaturation » est généralement défini comme une modification de la structure secondaire, tertiaire et quaternaire d'une protéine, sans modification de sa structure primaire. La dénaturation des protéines peut résulter de conditions physiques telles que la température (cuisson ou congélation), le stress mécanique, la pression ou des conditions chimiques telles que des modifications de la force ionique ou du pH (Ustunol, 2015). La dénaturation des protéines peut être souhaitable ou indésirable selon les circonstances. La dénaturation augmente la digestibilité d'une protéine, la rend souvent plus agréable au goût et inactive les enzymes de dégradation. Cependant, en fonction de l'ampleur de la dénaturation et des modifications, les conséquences peuvent altérer la valeur nutritionnelle des protéines.

- L'ajout de sel (NaCl et autres sels tels que lactate de potassium, chlorure de potassium...) augmente la force ionique du milieu et entraîne la dénaturation des protéines conduisant à leur solubilisation. Une analyse en microspectroscopie infrarouge sur du muscle bovin incubé dans une saumure à des teneurs en NaCl croissantes (0 à 1,5 M) ont montré une liaison entre le taux de sel et la dénaturation des protéines myofibrillaires (Astruc, 2018). Cette étude a montré que le taux d'hélice α diminue avec l'augmentation du taux de sel jusqu'à 1 M NaCl. Une concentration en sel de 1,5 M ne réduit pas sensiblement le taux d'hélice α comparativement à 1 M NaCl. Ce niveau de dénaturation est étroitement lié à la solubilité de la myosine dont le maximum est observé pour 1 M de NaCl. Des analyses par

calorimétrie différentielle à balayage sur de la mûlée de porc à laquelle du NaCl a été ajouté (1,5 % à 3 %) (Villamonte *et al.*, 2013) et sur de la viande de bœuf avec 0,7 à 1,2 % de NaCl Pighin *et al.* (2008) ont montré une diminution de l'enthalpie totale de dénaturation des protéines par rapport à des témoins sans ajout de sel, ce qui témoigne de la dénaturation des protéines après ajout de NaCl.

- La chaleur est l'une des manières les plus courantes de dénaturer les protéines alimentaires. Les différents types de protéines de la viande ont un comportement relativement différent à la dénaturation thermique : les protéines myofibrillaires et les protéines du tissu conjonctif se contractent pendant le chauffage, contrairement aux protéines sarcoplasmiques qui se dilatent lorsqu'elles sont chauffées (Baldwin, 2012).

Lorsque la viande est soumise à une chaleur comprise entre 35 °C et 60 °C, les fibres musculaires se contractent transversalement, ce qui provoque un élargissement de l'espace entre elles. À mesure que la température augmente (> 65°C), les fibres musculaires se contractent longitudinalement et l'eau contenue dans les filaments épais et minces est expulsée (Boland *et al.*, 2018 ; Baldwin, 2012 ; Christensen *et al.*, 2011).

La dénaturation des protéines myofibrillaires est un phénomène important dans le processus de gélification de certains produits carnés. La gélification des protéines myofibrillaires de la viande se déroule selon un processus séquentiel en trois étapes (Figure 6) : la dénaturation de molécules de protéines individuelles (à partir de 30 – 32 °C) suivie de leur agrégation par la formation d'interactions hydrophobes (entre 36 - 40 °C) ; et enfin, les petits agrégats de protéines ou oligomères sont réticulés pour former de fins brins qui mènent finalement à un réseau viscoélastique continu (entre 40-50 °C) (Tornberg 2005, Starsburg *et al.*, 2008). Dans la fabrication de certains produits carnés, une dénaturation des protéines est nécessaire pour former un gel protéique comme dans le cas des produits carnés restructurés et broyés (saucisse, jambon cuit restructuré, etc). La formation de gel est non seulement responsable de l'adhérence des morceaux de viande et donc de la tenue de tranche, mais joue également un rôle important dans la liaison de l'eau, des arômes et des graisses dans les produits cuits.

Les protéines sarcoplasmiques se dénaturent et commencent à gélifier lorsqu'elles sont chauffées entre 40 et 60 °C mais pour certaines d'entre elles, leur dénaturation peut s'étendre jusqu'à 90 °C (Rochdi *et al.*, 1985 ; Brunton *et al.*, 2006). Les protéines sarcoplasmiques jouent un rôle dans la consistance de la viande cuite en formant un gel entre les éléments structuraux de la viande et les lier entre eux (Tornberg 2005).

Les protéines du tissu conjonctif sont généralement dénaturées à environ 60 °C. Le collagène se dénature entre 53 et 63 °C (Tornberg, 2005). À des températures comprises entre 58-65 °C, le tissu conjonctif entre dans une étape de transition où l'on observe une contraction et des modifications de structure en passant de l'état natif (hélice) à une structure désordonnée (amorphe) (Lepetit, 2008). Cela conduit à la formation de gélatine de structure désordonnée, soluble dans l'eau, réduisant ainsi l'adhésion entre les fibres musculaires (Boland *et al.*, 2018,).

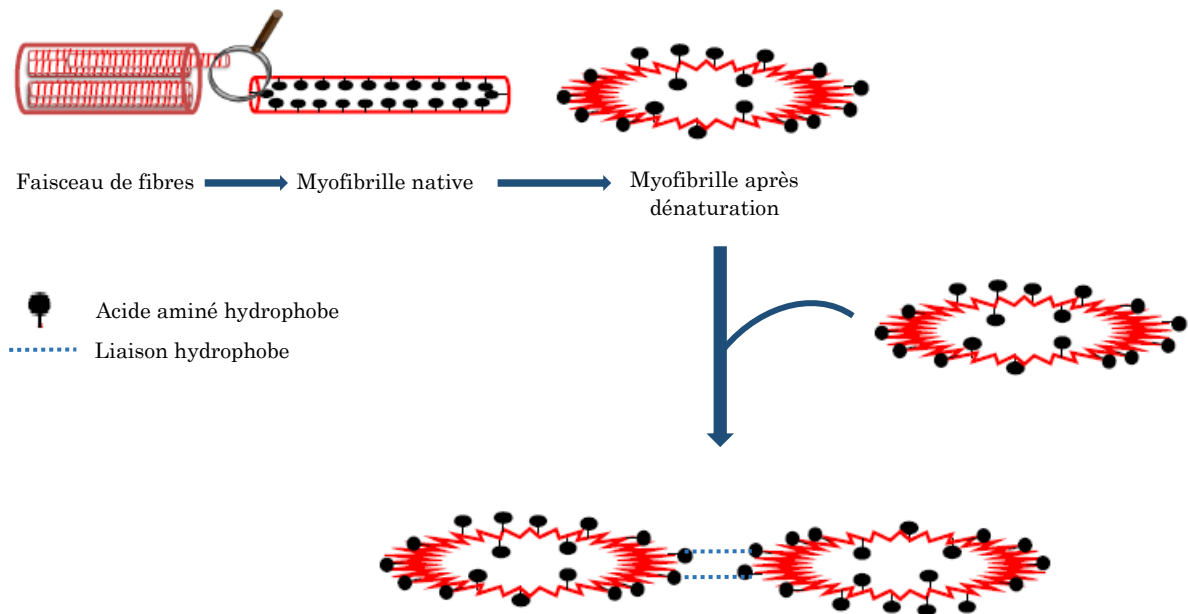


Figure 6 : Schéma représentatif de la dénaturation thermique des protéines myofibrillaires (Promeyrat, 2013)

- Le procédé hautes pressions conduit également à la dénaturation des protéines. Il modifie les structures protéiques secondaires, tertiaires et quaternaires dans les muscles en perturbant leurs conformations et les interactions moléculaires (Sikes et Warner, 2016 ; Campus, 2010). Les effets des hautes pressions sur la viande et les produits carnés seront détaillés dans la partie suivante.

c. L'agrégation protéique

L'agrégation des protéines est un phénomène largement étudié en médecine, dans le domaine pharmaceutique et le domaine alimentaire. L'agrégation des protéines est modulée par plusieurs facteurs chimiques (pH, force ionique, oxydation) et physiques (élévation de température, congélation, stress mécanique) dont :

- **Le sel** : les interactions électrostatiques jouent un rôle important dans l'intégrité de la structure de la protéine, car l'intérieur de la protéine est riche en résidus hydrophobes tandis que sa surface est recouverte en grande partie de résidus hydrophiles. Ces résidus d'acides aminés hydrophiles chargés interagissent avec les molécules du solvant. Les sels sont connus pour interférer avec ces interactions électrostatiques et ont donc des effets sur la structure, la fonction et la stabilité des protéines. Une faible concentration en sel augmente la solubilité des protéines alors qu'une concentration plus élevée induit l'agrégation des protéines (Alam *et al.*, 2017). Les protéines montrent généralement d'abord une augmentation de la solubilité (salting in) avec l'augmentation de la concentration en sel (de 0,3 à 1 M). Ceci est suivi par une diminution de la solubilité (salting out) lors d'une addition importante de sel (à partir de 1 M). Le « salting in » est attribué à la réduction

des interactions électrostatiques ou de la liaison entre les domaines hydrophiles des protéines. Ceci conduit à l'augmentation de la charge des protéines entraînant une répulsion électrostatique protéine-protéine et ainsi la solubilisation. Ce processus est généralement indépendant du type d'ion. Le « salting out », en revanche, est généralement attribué à la perte d'une surface hydrophile stable, provoquant l'exposition des zones hydrophobes des protéines et conduisant à l'interaction, l'agrégation et la précipitation de ces dernières (Albarracín et al., 2011 ; Hultin *et al.*, 1995)

- **La température :**

→ Les traitements thermiques peuvent modifier la structure secondaire et tertiaire des protéines (dénaturation), augmentant ainsi l'hydrophobie de surface. En conséquence de cette dénaturation thermique, une exposition à la surface de la protéine d'acides aminés hydrophobes, qui sont principalement des acides aminés aromatiques et des acides aminés aliphatiques à longue chaîne, peut se produire et favoriser une tendance des protéines à former des agrégats (Promeyrat *et al.*, 2010a). La formation et la morphologie des agrégats thermiques dépendent de la température et du temps. Promeyrat *et al.* (2010b) a proposé un modèle pour illustrer ces différentes formes d'agrégats (Figure 7). Dans ce modèle, une cuisson modérée (à basse température ou de courte durée) génère des agrégats fibreux intermédiaires, dans laquelle une interaction longitudinale entre les fibres induit un allongement des particules. En générant un pliage de ces structures, l'augmentation du temps de cuisson et de la température produit des agrégats amorphes ayant un aspect circulaire.

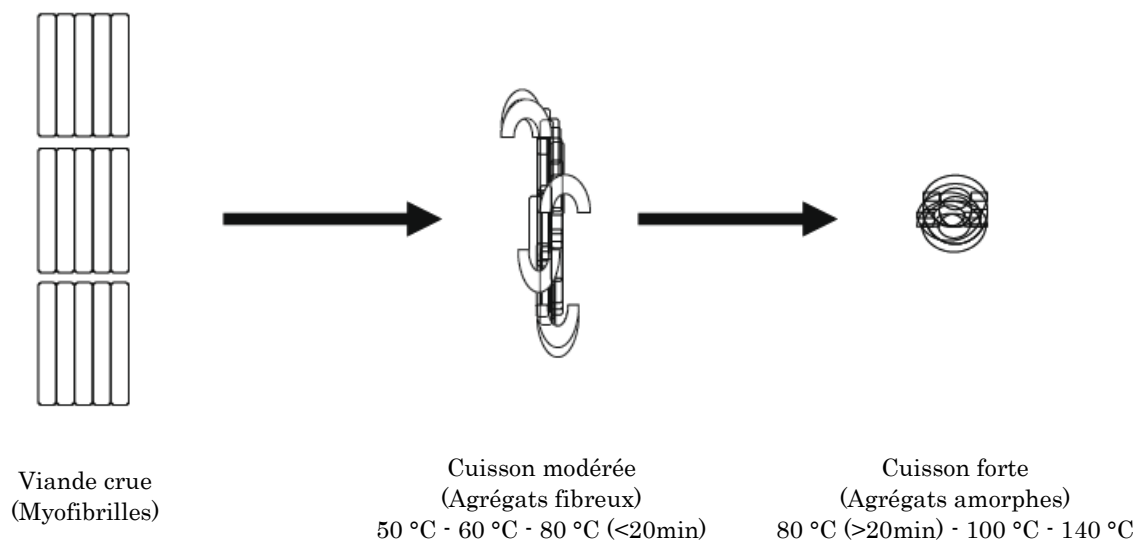


Figure 7 : Représentation schématique de l'agrégation protéique au cours d'un traitement thermique (d'après Promeyrat *et al.* (2010b)

→ La congélation peut également favoriser la dénaturation et l'agrégation des protéines. L'étude de Kajak- Siemaszko *et al.* (2011) a montré une agrégation dense des protéines du muscle *Longissimus dorsi* de porc après congélation (Figure 8).

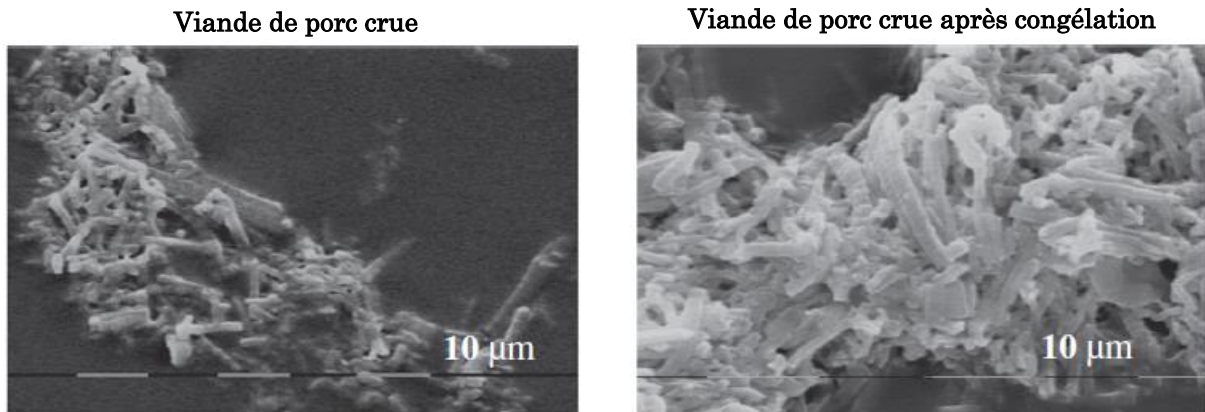


Figure 8 : Observation d'agrégats par microscopie électronique sur muscles *Longissimus dorsi* de porcs (effet de la congélation) (Kajak- Siemaszko *et al.*, 2011)

- L'oxydation des protéines entraîne également la formation d'agrégats par les liaisons croisées formées entre les résidus de cystéine (pont disulfure) ou de tyrosine (pont dityrosine), ainsi que par la réaction ultérieure de carbonyles avec des groupes amino libres. Ceci est principalement dû à un processus de dépliement (dénaturation) induit par l'oxydation, qui augmente l'hydrophobie de surface de la protéine oxydée pendant le dépliement (Zhang, Xiao & Ahn, 2013).

I.6.2. Les phénomènes d'oxydation

a. Oxydation des lipides

L'oxydation des lipides dans la viande commence immédiatement après l'abattage et se poursuit pendant le vieillissement post-mortem, tandis que le muscle est transformé en viande, et même pendant le stockage et la transformation. Les paramètres de traitement ont une influence sur la stabilité oxydative des produits carnés, tels que la composition et la qualité de la viande crue, les conditions de cuisson ou de chauffage, le traitement mécanique (broyage ou hachage), l'utilisation d'additifs comme le sel, les nitrites, les épices et les antioxydants, le type de conditionnement, ainsi que la température de distribution et de stockage.

Les principaux substrats de l'oxydation des lipides sont les acides gras polyinsaturés qui se trouvent généralement estérifiés au sein des triglycérides et des phospholipides. L'oxydation des lipides peut avoir plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des agents initiateurs. Ainsi, on peut distinguer l'auto-oxydation catalysée par la température, les ions métalliques et les radicaux libres ; la photo-oxydation, initiée par la lumière en présence de photosensibilisateurs et l'oxydation enzymatique initiée par les lipoxygénases et/ou la cyclooxygénase (Niki *et al.*, 2005). Toutefois, les produits d'oxydation restent proches et l'oxydation se déroule suivant un mécanisme de réactions radicalaires en chaîne.

L'oxydation des lipides peut être décomposée en trois étapes principales (Figure 9) (Cheng, 2016 ; Villière & Genot, 2006 ; Erickson, 2002) :

- L'initiation ou amorçage : l'initiation se produit lorsque l'hydrogène est extrait d'un acide gras insaturé, produisant un radical alkyle (R^\bullet).
- La propagation : les radicaux alkyles réagissent à leur tour avec l'oxygène moléculaire pour former des radicaux peroxy (ROO^\bullet). Au cours de la propagation, les interactions lipides-lipides favorisent la propagation des radicaux libres produits lors de l'initiation en extrayant l'hydrogène de molécules adjacentes ; le résultat est un hydroperoxyde lipidique ($ROOH$) et un nouveau radical alkyle (R^\bullet) engageant ainsi de nouveaux cycles réactionnels. Les hydroperoxydes, produits primaires de la réaction, sont des molécules instables. Ils se décomposent sous l'effet de la chaleur ou des métaux en donnant naissance à des produits secondaires.
- La terminaison : pour rompre la séquence répétitive d'étapes de propagation, deux types de réactions de terminaison sont rencontrés : le couplage radical-radical et la décomposition des espèces radicalaires formant d'autres produits secondaires. Dans les deux cas, des produits non-radicalaires sont formés.

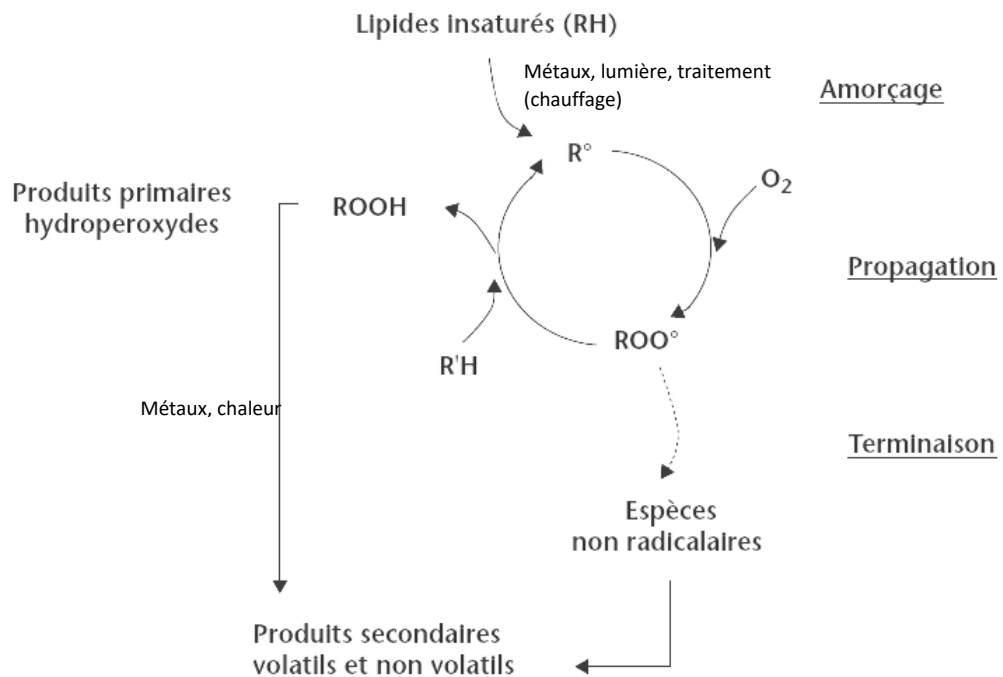


Figure 9 : Représentation schématique du mécanisme d'auto-oxydation des lipides (Villière & Genot, 2006)

Dans certains cas, l'oxydation des lipides est souhaitable, comme par exemple pour le développement de l'arôme typique de certains produits carnés, tels que le jambon cuit ou les produits carnés secs (jambon sec, saucisses sèches) (Martínez-Onandi *et al.*, 2017 ; Benet *et al.*, 2016, Benet *et al.*, 2015). Des centaines de composés volatils déterminés dans la viande cuite comprennent des produits d'oxydation de lipides et d'acides gras, par exemple les hydrocarbures aliphatiques, les aldéhydes, les cétones, les alcools, les acides

carboxyliques et esters. Beaucoup d'entre eux sont insignifiants pour le développement des arômes, mais les aldéhydes saturés et non saturés, qui contiennent 6 à 10 atomes de carbone, jouent un rôle important dans ce processus (Kosowska *et al.*, 2017).

b. Oxydation des protéines

L'oxydation des protéines dans la viande peut être initiée par les mêmes facteurs de stress externes qui sont responsables de l'oxydation des lipides ou par les produits secondaires d'oxydation des lipides. Parmi les initiateurs les plus importants et les plus étudiés de l'oxydation des protéines figurent les métaux de transition, principalement le fer, le cuivre et le manganèse libérés de métalloenzymes au cours d'un traitement thermique ou physique (broyage, hachage). L'oxydation des protéines peut concerner différentes classes d'acides aminés (Papuc *et al.*, 2017) :

- les acides aminés basiques (lysine, histidine, arginine) : ces acides aminés présentent des fonctions amines (NH ou NH₂) sur leurs chaînes latérales et sont particulièrement sensibles aux attaques radicalaires. En présence de métaux, ils subissent une désamination oxydative conduisant à la formation de carbonyles (Estevez, 2011).
- les acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine et tryptophane) : ils sont aussi très sensibles à l'oxydation en subissant des réactions d'hydroxylation sur leurs noyaux aromatiques.
- les acides aminés soufrés : ces acides aminés sont fortement sensibles à l'oxydation à cause de la forte réactivité du groupement sulfhydryle (SH). L'oxydation de la cystéine entraîne la formation des ponts disulfure entre les chaînes peptidiques et conduit à la formation de plusieurs produits d'oxydation (acide sulfénique, acide sulfinique, acide sulfonique ...). L'oxydation de la méthionine va donner de la méthionine sulfone et de la méthionine sulfoxyde.

La figure 10 montre le mécanisme de l'oxydation protéique ainsi que l'interdépendance entre l'oxydation des protéines et des lipides.

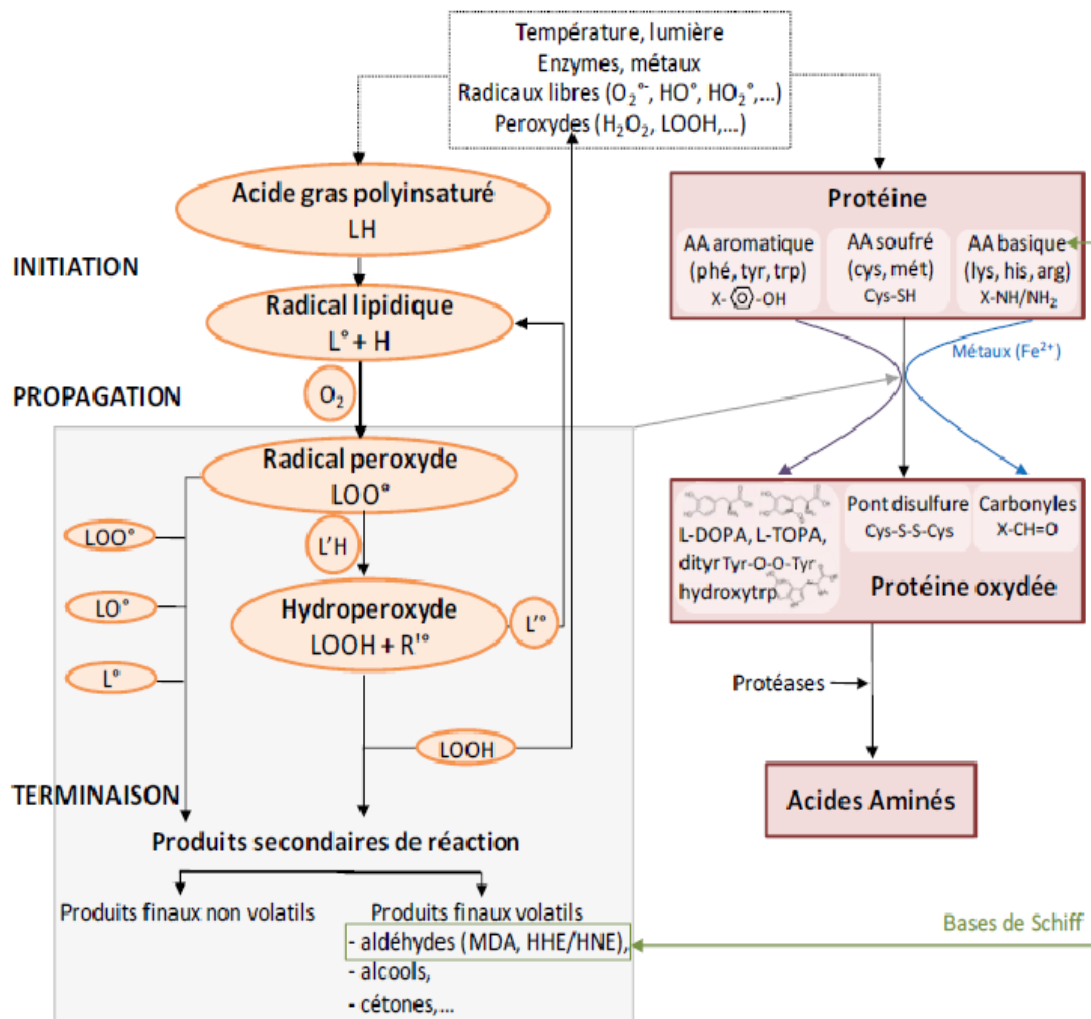


Figure 10 : Schéma simplifié montrant l'interdépendance des oxydations lipidiques et protéiques. (D'après Bax, 2012)

AA: acide aminé, L-DOPA: L-dihydrophénylalanine; L-TOPA: L-trihydrophénylalanine, Dityr: dityrosine, hydroxytrp: hydroxytryptophane, MDA: malondialdéhyde, HHE: 4-hydroxy-2-hexenal, HNE: 4-Hydroxy-2-nonenal

II. LE TRAITEMENT PAR HAUTES PRESSIONS DES PRODUITS ALIMENTAIRES

II.1. La technologie des hautes pressions

Le procédé hautes pressions, également appelé « pascalisation » ou « pasteurisation à froid », est une technologie non thermique et éco-efficace. Bien que les hautes pressions aient d'abord été appliquées en laboratoire par Hite en 1899 pour détruire les micro-organismes dans le lait afin d'améliorer sa durée de conservation, la technologie est considérée comme un processus émergent depuis que les premiers systèmes à échelle industrielle sont disponibles au Japon en 1990 (Farkas, 2016). Le procédé des hautes pressions est en pleine expansion. La figure 11 illustre l'évolution du nombre de pilotes hautes pressions dans le monde jusqu'en 2016, ainsi que la répartition de ces pilotes dans le secteur agroalimentaire.

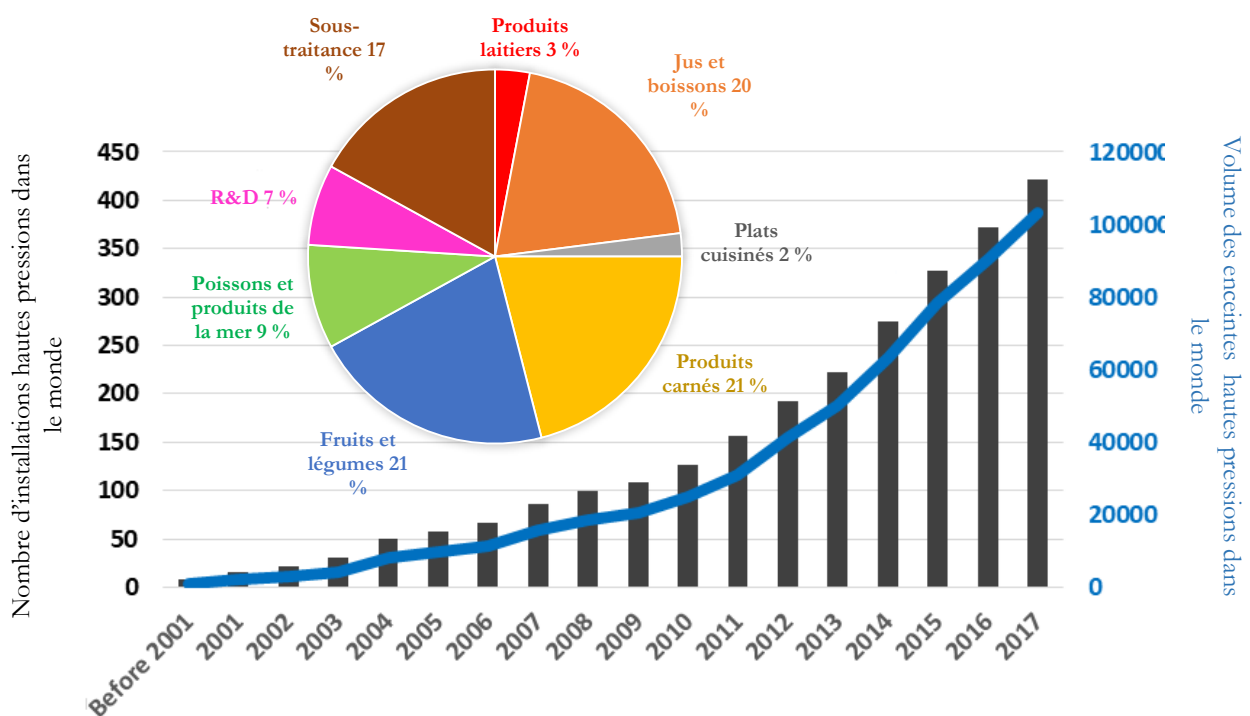


Figure 11 : Développement des hautes pressions dans l'industrie agroalimentaire (Tonello-Samson, 2017)

II.1.1. Principe du traitement

Le procédé des hautes pressions est gouverné par le principe de Le Chatelier, qui s'applique à tous les processus physiques et indique que lorsqu'un système à l'équilibre est perturbé, le système réagit de manière à minimiser les perturbations (Mozhaev *et al.*, 1994). Cela signifie que les hautes pressions stimulent les réactions qui entraînent une diminution du volume (par exemple, transition de phase, changement de configuration moléculaire, réaction chimique) et atténuent les réactions qui impliquent une augmentation du volume.

L'équilibre de dissociation d'une liaison chimique entre deux atomes A-B peut s'écrire :



Sa sensibilité à la pression dépend de la valeur de ΔV ou variation de volume lié au système :

$$\Delta V = V (A_{\text{atome}} + B_{\text{atome}}) - V (A-B)$$

Comme le principal effet de la pression est de déplacer l'équilibre vers l'état de plus faible volume, si $\Delta V < 0$, la liaison chimique sera dissociée sous pression. En revanche, si $\Delta V > 0$, la pression ne conduira à aucune modification de cette dernière. Les variations de volume et l'effet de la pression sur les liaisons chimiques sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5 : ΔV de dissociation et effet de la pression sur les liaisons chimiques (Mozhaev *et al.*, 1996)

Type de liaison	ΔV de dissociation (ml/mol)	Action de la pression sur la liaison
Covalente	+10	Renforcement
Ionique	-10 par ion engagé	Déstabilisation
Hydrophobe	+3 à -1	Effet de déstabilisation réduit
Hydrogène	<0, de -10 à -20	Déstabilisation

II.1.2. Description de l'équipement et du process

Le pilote hautes pressions est constitué d'une enceinte résistante à la pression couplée à un système de fermeture étanche, à une pompe externe qui génère la pression et un système de contrôle pour surveiller et enregistrer les diverses variables du processus (Figure 12).

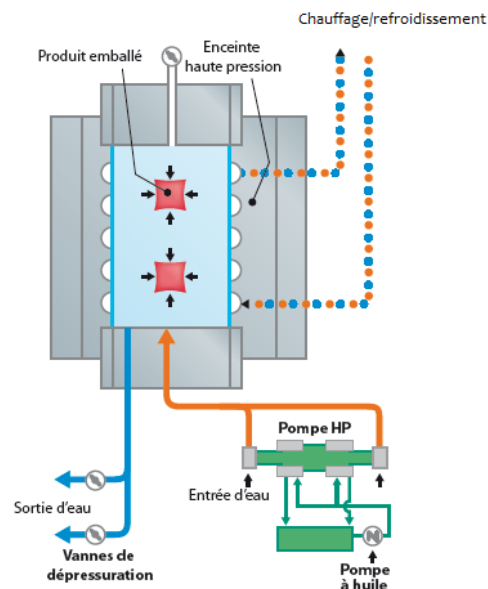


Figure 12 : Schéma des installations d'un pilote hautes pressions (Martin, 2016)

Le traitement par hautes pressions se déroule en trois étapes (Figure 13) : une période initiale nécessaire pour atteindre la pression de traitement ou temps de montée en pression (pressurisation), une période de maintien de la pression, et une dépressurisation qui est souvent quasi-instantanée.

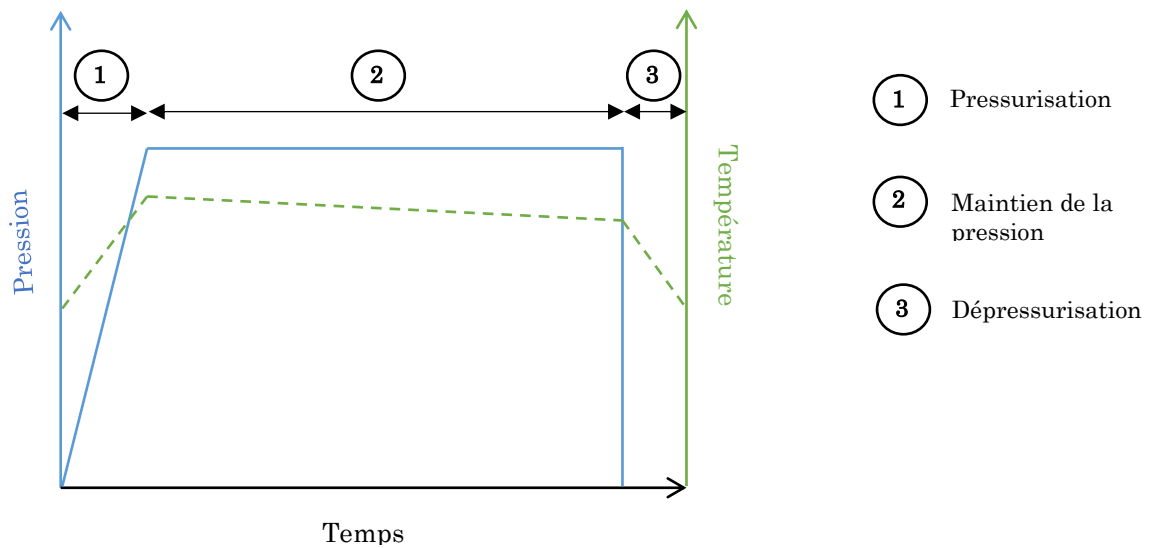


Figure 13 : Cinétique de pressurisation

Pendant le traitement par hautes pressions, les aliments conditionnés dans un emballage hermétique et souple sont placés dans une enceinte métallique dont l'intérieur est en acier inoxydable ; et où ils sont traités à l'aide d'un fluide transmetteur de pression faiblement compressible, généralement de l'eau. La pression, générée par la pompe hydraulique se maintient sans apport énergétique et s'exerce uniformément à travers tout le produit. Le volume de ce dernier diminue d'environ 5 à 15 % en fonction de sa composition et de la pression appliquée, mais ce phénomène est réversible à la dépressurisation. Le traitement par hautes pressions hydrostatique applique une pression isostatique transmise instantanément et uniformément à l'aliment, indépendamment de sa taille et de sa géométrie. Ainsi, le produit ne ressort pas écrasé (Neetoo & Chen, 2012 ; Yordanov & Angelova, 2010 ; Jung *et al.*, 2010 ; Tonello, 1998).

Pendant le traitement par hautes pressions, aucune énergie supplémentaire n'est requise pour maintenir les échantillons à la pression souhaitée. Cependant, une montée en pression s'accompagne toujours d'une augmentation de la température du produit par chauffage adiabatique. L'ampleur de cette augmentation dépend du milieu de pressurisation, du niveau de pression cible, de la vitesse de pressurisation, de l'enceinte de pressurisation et de la température initiale (Tao *et al.*, 2014)

II.2. Effet des hautes pressions sur la biochimie des aliments

II.2.1. Effet des hautes pressions sur l'eau

L'eau constitue le composant principal de nombreux produits alimentaires et ses propriétés sous pression présentent un intérêt particulier. La compressibilité de l'eau est modifiée sous pression, ainsi, à 20 °C, elle est de 4 % à 100 MPa, 7 % à 200 MPa et 15 % à 600 MPa. Parallèlement, cette compression adiabatique

s'accompagne d'une élévation de température modérée, variant en fonction de la cinétique de pressurisation. À 25 °C, l'ordre de grandeur de cette élévation de température est de 3 °C pour 100 MPa, mais elle peut être limitée par les échanges thermiques entre l'eau et l'enceinte (Pottier *et al.*, 2016. Grauwet *et al.*, 2016)

Selon le principe de Le Châtelier mentionné précédemment, les équilibres sous pression sont déplacés vers un volume inférieur. Étant donné que le volume total de l'eau et de ses différents états peut varier, la pression module la température à laquelle se produit la transition de phase entre l'eau liquide et la glace solide (Figure 14). Par exemple, le point de fusion atteint -22 °C pour un traitement à 210 MPa et par ailleurs à 20 °C la glace ne peut se former qu'à partir de 880 MPa (Norton & Sun, 2008).

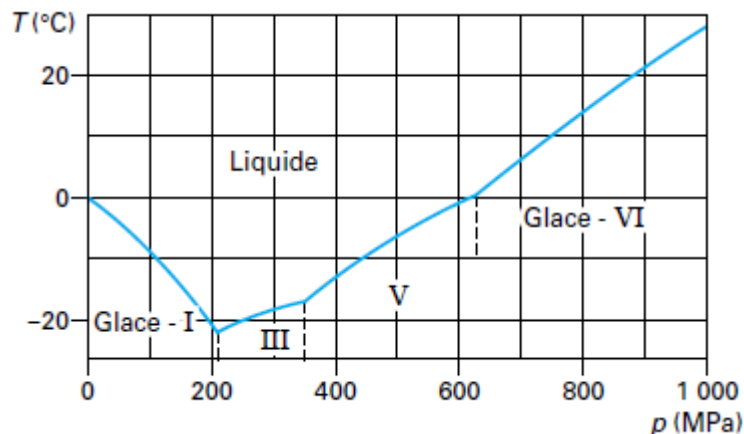


Figure 14 : Les différentes phases de l'eau (Makita, 1992)

Une autre propriété des systèmes aqueux sous pression est le décalage de l'équilibre de dissociation et les changements concomitants de la valeur du pH. En effet, Martinez-Monteagudo & Saldaña (2014) ont rapporté une diminution du pH de l'eau de 0,3 à 0,73 unité tous les 100 MPa selon sa pureté. Pour satisfaire à la diminution de volume souhaitée par la contrainte pression, on observe une ionisation de l'eau, des sels, des acides et des bases lors du traitement due au phénomène d'électrostriction (réarrangement des ions) (Tonello, 1998).

Le phénomène d'électrostriction est donc responsable de la diminution du pH des systèmes aqueux sous pression et ce changement de pH peut atteindre une unité à 500 MPa. Ce changement de pH sous pression est réversible et est limité par la présence d'agents tampons tels que des protéines (Jung *et al.*, 2010). Cependant, cette acidification temporaire du milieu ne doit pas être négligée car elle peut avoir des conséquences sur certaines réactions biochimiques ou enzymatiques.

II.2.2. Effet des hautes pressions sur les glucides et polysaccharides

Les hautes pressions n'ont aucun effet sur les monosaccharides et les oligosaccharides, car ils sont stabilisés par des liaisons covalentes. Par conséquent, la pression n'a aucun effet sur de telles structures. Par exemple

un jus de citron frais traité à 600 MPa voit sa teneur en glucose, fructose et saccharose totalement conservée (Ogawa *et al.*, 1992).

En revanche, les hautes pressions peuvent conduire à la modification des structures polysaccharidiques qui sont maintenues par des liaisons faibles. Ainsi les macromolécules glucidiques telles que les pectines, l'amidon ou les alginates sont susceptibles d'être modifiées par la pression. Le traitement par hautes pressions provoque un gonflement de l'amidon, ce qui peut entraîner une gélification (Simonin *et al.*, 2011 ; Vallons & Arendt, 2009). Les phénomènes induits par la pression, et en particulier la gélification, sur un mélange amidon/eau dépendent de divers facteurs : son origine (maïs, pomme de terre...), la teneur en amidon, la température, la pression et la durée de traitement. Cependant les propriétés du gel d'amidon préparé sous hautes pressions sont différentes de celles obtenues après chauffage, ce qui suggère que les mécanismes d'action sont différents. Un mécanisme en deux étapes a été proposé dans lequel la partie amorphe des granules d'amidon est tout d'abord hydratée, ce qui conduit à leur gonflement, avant que l'eau ne vienne hydrater la partie cristalline (Oh *et al.*, 2008 ; Rubens *et al.*, 1999). Les pectines et les alginates peuvent également former des gels sous pression. Il est possible de produire avec de la pectine une gelée de fruits qui a un goût de fruit frais sans traitement thermique (Jung *et al.*, 2010).

II.2.3. Effet des hautes pressions sur les lipides

Le traitement par hautes pressions peut agir sur deux aspects des lipides. D'une part, le traitement par hautes pressions entraîne une modification de la température de fusion des lipides, qui peut augmenter jusqu'à 10 °C par 100 MPa. Cela implique que les lipides à l'état liquide à température ambiante peuvent cristalliser sous pression (Medina-Meza *et al.*, 2014). D'autre part, les hautes pressions peuvent favoriser l'oxydation des lipides notamment aux niveaux de pressions nécessaires à l'amélioration de la sécurité sanitaire de l'aliment. Ceci va alors engendrer une altération des propriétés organoleptiques et nutritionnelles des aliments soumis aux hautes pressions (Lerasle *et al.*, 2012). Cependant, cet effet est sujet à controverse et le mécanisme par lequel les hautes pressions favoriseraient l'oxydation des lipides n'est pas encore défini. Plusieurs hypothèses ont été formulées concernant les causes de l'oxydation par la pression comme la libération du fer (pro-oxydant) à partir des hémoprotéines par hautes pressions (Guyon *et al.*, 2016) ; ou encore la solubilisation de l'oxygène accélérant ainsi les réactions d'oxydation des lipides (Perrier-Cornet *et al.*, 2009).

II.2.4. Effet des hautes pressions sur les protéines et acides aminés

Les quatre types de structure des protéines sont stabilisées par des liaisons peptidiques, des liaisons hydrogène, des liaisons disulfures, des interactions hydrophobes, des interactions ioniques et des interactions de van der Waals (Cheung & Mehta, 2015). L'effet de la pression sur les protéines est conditionné par son action sur les différents niveaux de structure de celles-ci. La structure primaire n'est pas affectée par les hautes pressions. La structure secondaire est modifiée par des pressions élevées (>700 MPa) conduisant à une dénaturation irréversible mais les changements apportés dépendent de chaque protéine et

ne semblent pas pouvoir être prévus. Cela pourrait s'expliquer par le fait que les liaisons hydrogène, responsables du maintien de la structure hélicoïdale des peptides, sont renforcées à basse pression et ne se rompent qu'à très haute pression (Heremans, 1993). La déstructuration de la structure tertiaire, maintenue principalement par des interactions hydrophobes et ioniques, intervient à partir de 200 MPa. La structure quaternaire, par les liaisons qui la maintiennent, est très barosensible et est affectée à des pressions de l'ordre de 100 à 150 MPa. La modification structurale des protéines est généralement irréversible pour des niveaux de pression supérieurs à 200 MPa (Jung *et al.*, 2010, Balny & Masson, 1993).

Zhang *et al.* (2017a) ont mis en évidence les effets de la pression (100 à 500 MPa – 20 min) sur la conformation des protéines myofibrillaires de la viande de poulet. Un désordre de la structure secondaire a été mis en évidence par spectroscopie Raman. Au fur et à mesure que la pression augmente, l'hélice α et les feuillets β se changent en enroulement aléatoire et en "coudes" β . Enfin, les structures tertiaires et quaternaires sont affectées par la pression conduisant à un changement de l'hydrophobie de surface et de la teneur en groupements sulfhydryles.

Pendant le changement depuis l'état natif, la protéine évolue dans divers états conformationnels avant de devenir complètement dénaturée. Ces différents états de la protéine seront donc accessibles pour la formation de nouvelles interactions non covalentes ou des liaisons covalentes, conduisant à la coagulation, à l'agrégation ou à la gélification (Aryee, Agyei & Udenigwe, 2018). En effet, les changements dans les structures tertiaires, quaternaires et plus largement secondaires augmentent les interactions protéiques et favorise l'agrégation due à l'exposition des acides aminés hydrophobes à la surface de la protéine (Foegeding & Davis, 2001). La formation de gel est également une conséquence de la dénaturation des protéines par la pression. Le dépliage de la structure protéique conduit à l'exposition des résidus d'acides aminés hydrophobes qui se réarrangent, s'associent et s'agrègent de manière irréversible en formant des ponts disulfures, des liaisons hydrogène, des interactions hydrophobes et forment ainsi un réseau tridimensionnel (Aryee *et al.*, 2018). Toutefois, l'impact et l'étendue de la dénaturation induite par la pression dépendent de facteurs intrinsèques et extrinsèques, tels que la concentration, le pH, la force ionique, le niveau de pression, la durée et la température (Grossi *et al.*, 2016). Dans l'ensemble, la modification de la structure de la protéine induite par la pression entraîne des modifications des propriétés fonctionnelles telles que la couleur, la texture, la capacité de gélification et les propriétés émulsifiantes.

Les enzymes constituent une classe particulière de protéines dans lesquelles l'activité biologique provient d'un site actif qui est intégré dans la configuration tridimensionnelle de la molécule. Même de petites modifications du site actif peuvent entraîner une perte d'activité enzymatique. Comme la dénaturation des protéines est associée à des changements conformationnels, elle peut modifier la fonctionnalité de l'enzyme (par exemple, augmentation ou perte de l'activité biologique, modification de la spécificité des substrats). Il a été montré que des pressions relativement faibles (<100 MPa) activent certaines enzymes (Jolibert *et al.*, 1993). Cet effet de stimulation n'est cependant observé que pour les enzymes monomériques. En revanche,

des pressions beaucoup plus élevées induisent généralement une inactivation de l'enzyme (Hendrickx *et al.*, 1998, Eisenmenger & Reyes-De-Corcuera, 2009).

II.3. Effet des hautes pressions sur les micronutriments

Les vitamines sont des molécules de petites tailles dont la structure n'est formée que de liaisons covalentes. Ainsi, un traitement par hautes pressions seul n'affecte pas les vitamines car il n'agit pas sur les liaisons covalentes. Une extraction des vitamines assistée par les hautes pressions serait donc envisageable du fait de leur barostabilité (Jung, 2016). Par exemple, une augmentation de 24 % de la vitamine A a été rapportée après traitement de la purée de tomate à 400 MPa pendant 15 min à 25 °C (Sanchez-Moreno, 2004). Toutefois, l'effet des hautes pressions sur la teneur en vitamines des produits alimentaires pressurisés varie largement en fonction des conditions de traitement et du produit traité. La plupart des molécules colorantes et odorantes sont, elles aussi, très stables ce qui permet aux aliments de conserver leur couleur (par exemple la couleur due aux anthocyanes) et leur arôme (Perrier-Cornet *et al.*, 2009).

II.4. Effet des hautes pressions sur la microbiologie des aliments

L'inactivation des microorganismes par le traitement par hautes pressions est influencée par plusieurs facteurs. D'abord, par le type de microorganisme (bactéries, levures ou moisissures), leur nature (spores, cellules végétatives, Gram positif ou négatif), le genre, l'espèce, la souche et la phase de croissance. La figure 15 résume la résistance des divers microorganismes à la pression.

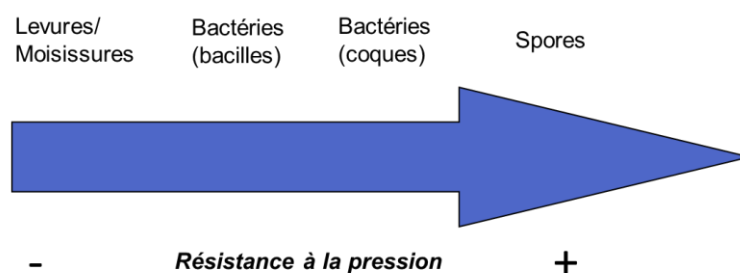


Figure 15 : Résistance des microorganismes à la pression (d'après Daryaei *et al.*, 2016)

À part le type de microorganismes, le taux et la cinétique d'inactivation des microorganismes dépendent également du niveau de pression appliqué, de la durée du traitement, de la température, du pH, de l'activité de l'eau et de la composition des aliments. En général, l'inactivation des microorganismes augmente avec la pression (Hugas *et al.*, 2002). La nature du produit alimentaire, par exemple une faible activité de l'eau, une forte teneur en matières grasses et en protéines et une concentration élevée en solutés ont été identifiées comme des facteurs importants pouvant augmenter la barotolérance des microorganismes et réduire l'inactivation bactérienne, permettant ainsi le recouvrement des cellules endommagées (Rendueles *et al.*, 2011).

II.4.1. Effet des hautes pressions sur les bactéries

L'inactivation des bactéries par la pression est attribuée à divers types de dommages qui s'accumulent à l'intérieur de la cellule notamment des modifications de la perméabilité et de la morphologie cellulaires, l'inhibition des réactions physiologiques essentielles au maintien, à la survie et à la reproduction des cellules, ainsi que des mécanismes génétiques (Syed *et al.*, 2016 ; Bajovic *et al.*,2012).

Le principal site d'inactivation microbienne induite par la pression est la membrane cellulaire. Les hautes pressions peuvent perturber son intégrité et modifier ses propriétés, notamment en diminuant la fluidité de la membrane, en provoquant une transition de phase de la bicouche lipidique membranaire et en dénaturant les protéines liées à la membrane (Rivalain *et al.*, 2010). La perte de l'intégrité membranaire se traduit par une séquence d'événements néfastes à la viabilité cellulaire : une fuite du contenu intra cytoplasmique, un changement de la pression osmotique, une perte de fonction de certaines enzymes. Ces lésions vont alors perturber le fonctionnement de la membrane et aboutir à une plus grande perméabilité membranaire et une déstabilisation des gradients électrochimiques menant à la mort de la cellule (Lerasle *et al.*, 2012).

II.4.2. Effet des hautes pressions sur les spores bactériennes

Les spores bactériennes représentent un défi pour la technologie par hautes pressions et de plus amples informations sur leur résistance sont nécessaires. Les spores microbiennes en suspension dans les aliments ou un système modèle de laboratoire pourraient être inactivées par un traitement par hautes pressions mais, par rapport aux cellules végétatives, les conditions de traitement doivent être extrêmes: pression plus élevée et longue durée d'exposition à température élevée. Margosch *et al.*, (2006) ont montré qu'une augmentation de la pression (600 à 1400 MPa) et une augmentation de la température (90 à 110 °C) accélèrent l'inactivation des spores de *Clostridium botulinum*. Quelques exemples d'inactivation de spores bactériennes par les hautes pressions sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Exemples d'inactivation de spores par les hautes pressions

Microorganismes	Milieu	Barème de traitement	Réduction de la charge microbienne	Références
<i>Bacillus cereus</i>	Lait	600 MPa - 70 °C - 20 min	- 4 log UFC	Evelyn <i>et al.</i> (2017)
<i>Clostridium perfringens</i>	Bouillon de bœuf	600 MPa - 75 °C- 20 min	- 2.2 log UFC	Evelyn & Silva (2016)
<i>Bacillus coagulans</i>	Jus de tomate	600 MPa - 75 °C - 10 min	En dessous de la limite de détection < 10 UFC/ml)	Daryaei & Balasubramaniam (2013)
<i>Clostridium botulinum</i>	Purée de carotte	600-800 MPa - 80-116 °C - 0-60 min	> 5.5 log UFC	Margosch <i>et al.</i> (2004)
<i>Clostridium botulinum</i> nonproteolytic type B	Chair de crabe	827 MPa - 75 °C - 20 min	> 6 log UFC	Reddy <i>et al.</i> (2006)
<i>Bacillus subtilis</i>	Emulsion de viande	621 MPa - 98°C - 5 min	> 9 log UFC	Wilson & Baker (2001)
<i>Bacillus stearothermophilus</i>			> 10 log UFC	

Entre autres, les hautes pressions ont été signalées comme pouvant induire des changements morphologiques visibles dans les structures des spores. Par exemple, la pressurisation des spores de *Bacillus cereus* aurait entraîné un allongement et un aplatissement des spores lorsqu'elles ont été traitées à 300 MPa (20 °C, 5 °C, 5 min) et une « rupture » des spores lorsqu'elles sont traitées à 500 MPa (20 °C, 5 min) (Gola *et al.*, 1996). Des altérations physico-chimiques des composants des spores pourraient être à l'origine des modifications morphologiques rapportées. Cependant, les événements exacts au niveau moléculaire sont inconnus et il ne peut être exclu que l'initiation de la germination puisse jouer un rôle dans certains des changements morphologiques observables après les traitements par hautes pressions.

Une stratégie pour inactiver les spores consiste à initier la germination des spores par un traitement par hautes pressions, puis à inactiver les formes germées à l'aide d'un second traitement (hautes pressions, traitement thermique, irradiation). Par exemple, Nguyen Thi Minh *et al.* (2010) ont montré qu'un premier traitement par hautes pressions pendant 30 min à 350 MPa et à 40 °C, un maintien à la pression atmosphérique pendant 30 min et un second traitement par hautes pressions à 350 MPa et à 40 °C pendant 10 min peuvent induire une destruction des spores de *Bacillus subtilis* d'environ 5 log.

Une étude de Raso *et al.* (1998) a également montré qu'une germination des spores de *Bacillus cereus* pourrait être induite par une pression hydrostatique à partir de 100 MPa, les cellules végétatives résultantes sont ensuite sensibles aux conditions environnementales. Toutefois, la sensibilité des spores germées sous pression dépend de la pression exercée. Ainsi, les spores germées à basse pression (100 MPa) sont beaucoup plus sensibles à une inactivation ultérieure par pression (600 MPa) ou par d'autres agents létaux que les spores germées à une pression plus élevée (500 MPa) (Wuytack *et al.*, 1998).

II.4.3. Effet des hautes pressions sur les autres microorganismes

Les levures et moisissures sont plus sensibles à la pression que les bactéries (Daryaei *et al.*, 2016). Des traitements compris entre 200 et 400 MPa suffisent généralement à les inactiver (Cheftel, 1995). Cependant, des exceptions persistent. Par exemple *Saccharomyces cerevisiae* semblent être plus résistantes que les bactéries Gram négatif, *Candida parapsilosis* n'est pas totalement inactivée après un traitement de 400 MPa à température ambiante lorsqu'elle est introduite dans de la confiture de fraise.

II.5. Application des hautes pressions sur les produits carnés

Actuellement, les chercheurs et les technologues manifestent un intérêt considérable pour l'application du traitement par hautes pressions en tant que technologie de conservation non thermique et de décontamination / pasteurisation / stérilisation pour prolonger la durée de conservation et la sécurité des viandes et produits carnés.

II.5.1. Impact des hautes pressions sur la microbiologie des produits carnés

L'un des principaux avantages des hautes pressions réside dans leur capacité à prolonger la durée de conservation et à améliorer la sécurité des aliments grâce à l'inactivation des populations microbiennes. La réponse à la pression des microorganismes végétatifs pathogènes et d'altération dans la viande et les produits carnés est variable, et dépend des paramètres du procédé tels que la pression, la température et le temps de traitement, ainsi que des paramètres tels que le pH, l'activité de l'eau, la teneur en sel et la présence d'autres antimicrobiens comme les additifs (Rendueles *et al.*, 2011).

a. Impact sur la flore d'altération des produits carnés

Pour la plupart des bactéries végétatives et des microorganismes d'altération, des réductions significatives ($> 4 \log$ UFC) dans la population microbienne sont obtenues lorsque des pressions de 400 à 600 MPa sont appliquées à température ambiante (Bajovic *et al.*, 2012). Les entérobactéries et les bactéries lactiques sont les principaux responsables de la détérioration microbiologique des produits carnés. Les études sur l'action des hautes pressions sur les entérobactéries s'accordent en général pour montrer qu'un traitement à 200 MPa suffit à rendre le nombre d'entérobactéries inférieur à la limite de détection après traitement, mais également au cours d'un stockage réfrigéré (Rubio *et al.*, 2007 ; Garriga *et al.*, 2004). Par ailleurs, la résistance des bactéries lactiques a été plusieurs fois rapportée dans la littérature. Jofré *et al.* (2009) ont par exemple observé une réduction du nombre de bactéries lactiques ($-4,6 \log$ UFC/g) juste après un traitement par hautes pressions (600 MPa, 6 min, 31 °C) sur du jambon cuit. Cependant, un recouvrement a été observé en fin de stockage. Le même constat a été fait par Han *et al.* (2011), Slongo *et al.* (2009) et Garriga *et al.* (2004) sur du jambon cuit et par Diez *et al.* (2008) sur du boudin. Cette barorésistance des bactéries lactiques peut se révéler particulièrement intéressant dans l'optique de la biopréservation de produits carnés par l'utilisation de souches protectrices. Des exemples d'inactivation de la flore aérobie mésophile dans des produits carnés sont présentés dans le tableau 7.

b. Impact sur les bactéries pathogènes des produits carnés

Les hautes pressions sont largement utilisées dans différents pays en tant que technologie de décontamination post-traitement pour des produits carnés cuits et saumurés, afin d'éliminer les risques liés aux agents pathogènes, notamment *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* O157: H7 et *Listeria monocytogenes* (Hygreeva & Pandey, 2016). *Listeria monocytogenes* est un agent pathogène qui préoccupe grandement l'industrie de la viande, car cet agent pathogène est omniprésent et se développe même dans des conditions réfrigérées en présence de sel et de nitrite (Myers *et al.*, 2013). De nombreuses études ont été menées sur les effets des hautes pressions sur l'inactivation de microorganismes pathogènes dans différents produits carnés. Quelques exemples sont donnés dans le tableau 8

Tableau 7 : Inactivation de la flore mésophile aérobie dans quelques produits carnés (d'après Simonin *et al.* (2012) avec quelques ajouts)

	Produits	Traitement HP appliqué	Réduction logarithmique par rapport au témoin non traité	Références
Produits crus	Porc mariné	450 MPa, 8 °C, 3 min	< 5 log UFC/g à 31 jours de stockage	Wang <i>et al.</i> (2015)
	Mêlée de porc crue	350 MPa, 20 °C, 6 min	- 1,5 log UFC/g immédiatement après traitement - 1,5 log UFC/g après 12 j de stockage (+ rupture de la chaîne du froid)	Duranton <i>et al.</i> (2012b)
		500 MPa, 20 °C, 6 min	- 3 log UFC/g immédiatement après traitement - 4,8 log UFC/g après 12 j de stockage (+ rupture de la chaîne du froid)	Duranton <i>et al.</i> (2012b)
	Boeuf marinée	600 MPa, 31 °C, 6 min	- 6,51 log UFC/g après traitement	Garriga <i>et al.</i> (2004)
	Bœuf cru	560 MPa, 10 °C, 4 min	- 2,5 log UFC/g le jour après traitement - 4 log UFC/g après 4 semaines de stockage	Jung <i>et al.</i> (2003)
	Saucisses de volailles	500 MPa, 50 °C, 10 min	- 3,28 log UFC/g le jour après traitement	Yuste <i>et al.</i> (2000)
500 MPa, 60 °C, 10 min		- 5,18 log UFC/g le jour après traitement	Yuste <i>et al.</i> (2000)	
Produits secs	Saucisses type chorizo	350 MPa, 20 °C, 15 min	Réduction inférieure à 1 log après traitement	Ruiz-Capillas <i>et al.</i> (2007b)
	Bœuf séché « Cecina de Leon »	500 MPa, 18 °C, 5 min	- 1,66 log UFC/g immédiatement après traitement - 2,55 log UFC/g après 60 j de stockage	Rubio <i>et al.</i> (2007)
	Jambon cru	600 MPa, 31 °C, 6 min	- 2,7 log UFC/g après traitement	Garriga <i>et al.</i> (2004)
Produits cuits	Wieners (saucisse)	600 MPa, 8 °C, 3 min	< 1 log UFC/g à 12 semaines de stockage	Pietrasik <i>et al.</i> (2017)
	Jambon cuit	600 MPa, 10 °C, 10 min	- 0,5 log UFC/g le jour après traitement - 4 log UFC/g après 68 j de stockage à 7 °C	Vercammen <i>et al.</i> (2011)
	Saucisses de Francfort	400 MPa, 30 °C, 10 min	- 2,16 log UFC/g après traitement	Ruiz-Capillas <i>et al.</i> (2007a)
	Jambon cuit	600 MPa, 20 °C, 10 min	- 4 à 5 log UFC/g après 8 semaines de stockage	Pietrzak <i>et al.</i> , 2007
	Jambon cuit	300 MPa, 20 °C, 15 min	- 0,3 log UFC/g après traitement	López-Caballero <i>et al.</i> (2002)
	Jambon cuit en tranches	400 MPa, 7 °C, 20 min	- 2,34 log UFC/g après traitement	López-Caballero <i>et al.</i> (1999)

Tableau 8 : Exemples d'étude sur l'effet des HP sur les pathogènes de produits carnés (adapté de Simonin *et al.* (2012))

Genre/Espèce	Produit traité	Traitement appliqué	Réduction logarithmique (log UFC/g)	Références
<i>Listeria monocytogenes</i>	Jambon cuit	600 MPa, 5 ou 20 °C, 0 ou 30 min	-4 sur les 6 initialement inoculés immédiatement après HP Recouvrement total après 4 semaines de stockage à 4 °C	Teixeira <i>et al.</i> , 2016
	Carpaccio de bœuf	450 MPa, 12 °C, 5 min	-1,1 sur les 6,7 initialement inoculés, immédiatement après HP	Bravo <i>et al.</i> (2014)
	Tranche de jambon	600 MPa, 3 min, 17 °C	En dessous de la limite de détection immédiatement après HP Pas de recouvrement jusqu'à 154 jours de stockage	Myers <i>et al.</i> (2013)
	Jambon cuit	400 MPa, 17 °C, 10 min	- 4 sur les 4 initialement inoculés, immédiatement après HP Recouvrement jusqu'à 8 log UFC/g après 60 j de stockage réfrigéré	Marcos <i>et al.</i> (2008)
	Jambon cuit	600 MPa, 10 °C, 5 min	-4 sur les 4 initialement inoculés, immédiatement après HP Pas de recouvrement pendant les 90 j de stockage à 1 °C ou 6 °C	Jofré <i>et al.</i> (2008)
	Escalope de dinde	500 MPa, 20 °C, 1 min	-0,9 sur les 7 initialement inoculés, immédiatement après HP	Chen (2007)
<i>Salmonella spp</i>	Bœuf jerky	600 MPa, 22 °C, 1 min	-5,36 sur 7,43 initialement inoculés, immédiatement après HP Pas de recouvrement après 14 jours de stockage	Scheinberg <i>et al.</i> (2014)
	Jambon sec fumé	600 MPa, 13 °C, 5 min	-1,5 sur les 1,5 initialement inoculés. Pas de recouvrement pendant 112 j de stockage réfrigéré	Stollewerk <i>et al.</i> (2012)
	Jambon cuit	600 MPa, 31 °C, 6 min	-3,5 sur les 3,5 initialement inoculés. Pas de recouvrement pendant 120 j de stockage à 4 °C	Jofré <i>et al.</i> (2009)
	Viande de poulet mixée avec différentes huiles	400 MPa, 20 °C, 30 min	-3,26 ou -4,35 (en fonction de la quantité de gras et du type de gras utilisé). Recouvrement au bout de 60 j de stockage à 2 °C.	Escriu <i>et al.</i> (2009)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Jambon cuit Jambon sec Bœuf mariné	600 MPa, 31 °C, 6 min	Réduction au bout de 60 j à 4 °C : - 1,3 (sur les 3,5 inoculés) - 1,3 (sur les 3,5 inoculés) - 2,5 (sur les 3,5 inoculés)	Jofré <i>et al.</i> (2009)
<i>Escherichia coli</i> AW1.7	Viande de volaille hachée	400 MPa, 40 °C, 30 min	-3 sur les 7,5 initialement inoculés, stable au cours des 20 j de stockage à 4 °C.	Liu <i>et al.</i> (2012a)
		600 MPa, 40 °C, 30 min	-4,5 sur les 6 initialement inoculés, immédiatement après HP	
<i>Escherichia coli</i> O157 : H7	Bœuf jerky	600 MPa, 22 °C, 1 min	-3,48 sur les 7,3 initialement inoculés, immédiatement après pression Pas de recouvrement après 14 jours de stockage	Scheinberg <i>et al.</i> (2014)
	Salami	600 MPa, 3 min	- 4 après traitement mais recouvrement total au bout de 28 j de stockage à 4 °C	Gill & Ramaswamy (2008)

II.5.2. Impact des hautes pressions sur la qualité des produits carnés

a. Impact sur la couleur

La couleur de la viande dépend de la quantité et du type de myoglobine présente dans le muscle (Campus, 2010). Le traitement par hautes pressions provoque des changements de couleur drastiques dans la viande fraîche, en particulier l'indice de rouge (a^*), et n'est donc pas considérée comme appropriée pour les applications commerciales (Bajovi *et al.*, 2012). Les changements de couleur de la viande crue après traitement par hautes pressions ont été rapportés comme étant liés à la dénaturation des protéines myofibrillaires et sarcoplasmiques (Ma & Ledward, 2013 ; Zhou *et al.*, 2010). Goutefongea *et al.* (1995) ont supposé que la dénaturation des protéines myofibrillaires affectait l'opacité résultante de la viande par modification de la répartition entre lumière réfléchiée et absorbée (augmentation de la réflexion de la lumière) et ainsi augmentait l'indice de clarté (L^*) de la viande. Carlez *et al.*, Cheftel (1995) ont suggéré que la décoloration de la viande rouge après un traitement par hautes pressions est due à un effet « blanchissant » probablement lié à la dénaturation de la myoglobine, qui se produirait entre 200 et 350 MPa provoquant une augmentation des valeurs de clarté L^* et transformant la couleur rouge du bœuf en un rose plus pâle. L'oxydation de la myoglobine en metmyoglobine quand la viande est traitée à des pressions ≥ 400 MPa entraînerait également une perte de la couleur rouge (diminution des valeurs de l'indice de rouge a^*) et transformant la couleur rose pâle en un gris-brun pâle (Carlez *et al.*, 1995). Les différentes formes possibles de la myoglobine dans la viande sont montrées sur la figure 16.

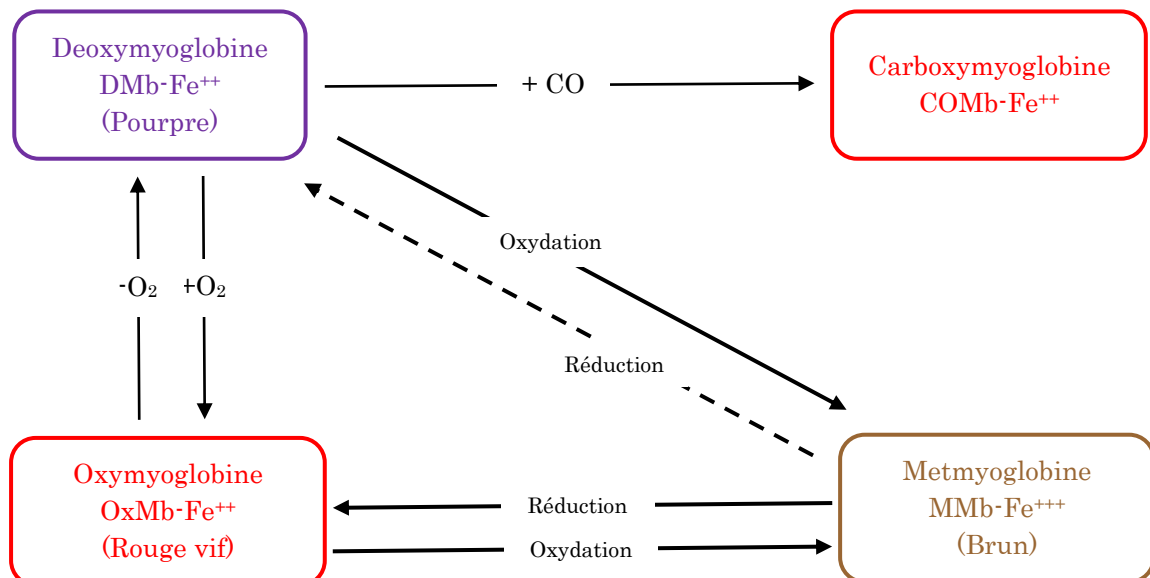


Figure 16 : Les modifications de la myoglobine dans la viande crue (Schumann & Schmid, 2018)

En règle générale, une pression élevée ne modifie pas la couleur des viandes saumurées. À des pressions supérieures à 200 MPa, le jambon sec présente une diminution de l'indice de rouge (Cava *et al.*, 2009) : les changements de couleur induits par la pression étaient évidents juste après le traitement mais n'ont pas été observés après 60 et 90 jours de stockage. Une explication de cette stabilité relative de la couleur dans les produits carnés saumurés traités par hautes pressions est la résistance du pigment nitrosylmyoglobine à l'oxydation (Pietrzak *et al.*, 2007).

b. Impact sur la texture

Des études ont montré qu'une pression modérée (<200 MPa) peut attendrir la viande lorsqu'elle est appliquée en pré-rigor c'est-à-dire quelques heures après l'abattage. Cependant elle n'a pas d'effet marqué sur la viande post-rigor à basse température (<30 °C). Le traitement par hautes pressions n'améliore la tendreté de la viande post-rigor que lorsqu'il est appliqué à des températures plus élevées (40 à 60 °C) (Sun & Holley, 2010). L'effet de la pression peut être le résultat de la dissociation du complexe actine-myosine par dénaturation et/ou l'activation de protéases telles que les cathepsines et / ou l'inactivation des calpaïnes (deux enzymes impliquées dans l'attendrissage de la viande) par la pression ou la rupture des fibres du muscle conjonctif (Neetoo & Chen, 2012).

Concernant les produits carnés transformés, les études varient selon les produits et les barèmes de traitement. Ainsi, Clariana *et al.* (2011) ont observé une augmentation de la dureté du jambon sec après traitement à 500 MPa à 15 °C pendant 6 min tout au long du stockage de 50 jours, tandis que Pietrzak *et al.* (2007) n'ont observé aucun changement sur la dureté du jambon cuit traité à 600 MPa à 20 °C pendant 10 min. Rubio *et al.* (2007) n'ont observé aucune différence de texture du bœuf séché après un traitement de 500 MPa (18 °C, 6 min), et ceci pendant 210 jours de stockage à 6 °C. De même, Garcia-Gil *et al.* (2014) n'ont pas observé de modification significative de la dureté sur du jambon sec traité à 500 MPa (7 °C, 10 min).

Par ailleurs, le traitement par hautes pressions peut également contribuer au maintien de la texture et de la jutosité des produits carnés à teneur réduite en sel. L'une des principales fonctions du sel dans les viandes transformées est la solubilisation des protéines myofibrillaires de la viande augmentant ainsi leur hydratation et leur capacité de liaison à l'eau. L'augmentation de la capacité de rétention d'eau de la viande réduit les pertes lors de la cuisson, augmentant ainsi la tendreté et la jutosité du produit carné (Inguglia *et al.* 2017 ; Desmond, 2006). La réduction en sel peut donc conduire à des modifications négatives sur les propriétés de texture et de rétention d'eau des produits carnés. Tamm *et al.* (2016) ont montré que la pressurisation à 100 MPa de la viande après le saumurage a des effets positifs sur le réseau protéique du jambon cuit réduit en sel améliorant ainsi sa capacité de rétention d'eau. De même, Yang *et al.* (2015) ont montré qu'une pression de 200 MPa (10 °C, 2min) a contribué à une diminution des pertes de cuisson et à l'amélioration des propriétés texturales de saucisse de porc réduite en sel. Les mêmes constats ont été montrés par Crehan *et al.* (2000) sur des saucisses de Frankfurt traitées à 150 MPa (20 °C, 5min). Le traitement par hautes

pressions pourrait donc être considéré comme un pré-traitement de la viande entrant dans la fabrication de produits carnés.

c. Impact sur les phénomènes d'oxydation

- **Impact sur l'oxydation des lipides**

L'oxydation des lipides est un paramètre important pour déterminer la stabilité et la qualité sensorielle des produits traités par hautes pressions et influençant leur acceptabilité (Pottier *et al.*, 2016). Des niveaux de pression élevés (> 300 MPa) accélèrent l'oxydation des lipides dans les produits carnés, conduisant à des composés primaires (diènes conjugués et hydroperoxydes) et secondaires (composés carbonylés, cétones, alcools et aldéhydes) (Jofré & Serra, 2016). Les hautes pressions accélèrent généralement l'oxydation des produits carnés au cours du stockage ; toutefois, en fin de stockage, le niveau d'oxydation du produits traités par hautes pressions reste identique à celui du témoin non traité (Fuentes *et al.*, 2010 ; Orlien *et al.*, 2000).

Cependant, plusieurs études ont conclu que le traitement à des pressions supérieures à 350 MPa a un effet pro-oxydant sur différents types de viande (porc, bœuf, poulet, ...) (Guyon *et al.*, 2016). Différents mécanismes ont été proposés pour expliquer l'oxydation lipidique induite par la pression, même si elle reste encore incertaine. En général, il a été suggéré que la pression déclenche l'oxydation des lipides par deux mécanismes : une plus grande accessibilité pour le fer à partir des hémoprotéines et une rupture des membranes lipidiques (Bolumar *et al.*, 2014). L'oxydation des lipides est également impactée par le mode de conditionnement des produits : conditionner sous atmosphère modifiée ou bien sous vide permettrait de limiter l'accélération de l'oxydation induite par la pression (Campus *et al.*, 2008, Andrés *et al.*, 2006).

- **Impact sur l'oxydation des protéines**

Les études rapportant les effets des hautes pressions sur l'oxydation des protéines sont moins nombreuses que celles relatant les effets des hautes pressions sur l'oxydation des lipides. Cependant, il apparaît que l'oxydation des protéines se produit dans les mêmes conditions de pression que celles trouvées pour l'oxydation des lipides (c'est-à-dire à partir de 300 MPa). En effet, Jung *et al.* (2003) n'ont signalé aucun effet du traitement à 300 MPa (15 °C - 5 min) sur les teneurs en carbonyles de la viande de boeuf alors qu'à 600 MPa une augmentation significative de la teneur en carbonyles est observée. Cependant, Cava *et al.* (2009) n'ont montré aucun changement dans la teneur en carbonyles du jambon sec après le traitement par hautes pressions (200-300 MPa, 15-30 min, 14 °C) et pendant 90 jours d'entreposage réfrigéré.

L'apparition concomitante de l'oxydation des protéines et des lipides a été observée dans plusieurs études. Guyon (2016) a suggéré un mécanisme synergique de l'oxydation des lipides et des protéines de la viande traitée par hautes pressions (Figure 17). Dans cette étude, l'auteur a montré que les indicateurs de l'oxydation des protéines (composés carbonylés, diminution en groupement thiols) sont modifiés mais évoluent peu lors du stockage, tandis que les indicateurs de l'oxydation des lipides (diènes conjugués, MDA, hexanal) sont plutôt peu modifiés directement après traitement mais leur formation est favorisée au cours du stockage.

le 1^{er} janvier 2018). Cette législation établit une évaluation et un système de licence obligatoire pour les nouveaux aliments et les nouveaux procédés. Les aliments traités par hautes pressions sont des aliments nouveaux car ils remplissent deux conditions : leur histoire de consommation humaine a été jusqu'à présent négligeable et deuxièmement, ils ont été produits par un nouveau procédé de fabrication (Hugas *et al.*, 2002). Plusieurs agences sanitaires nationales, dont l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES), ont rendu des avis favorables concluant à l'innocuité et à l'efficacité des traitements par hautes pressions à froid, sur les aliments et leurs emballages. La plupart des applications industrielles sont donc maintenant possibles sans expertise préalable dans plusieurs pays Européens. En 2010, l'ANSES a reconnu qu'un traitement par hautes pressions n'induisait pas de substances nocives, jusqu'à une pression de 600 MPa, pendant une durée de 2 à 5 minutes avec utilisation d'eau à température ambiante ou refroidie (Saisine n° 2010-SA-0193 « concernant les traitements par hautes pressions hydrostatiques sur des aliments emballés » (AFSSA, 2010a). Les industriels sont donc exonérés de la constitution et de la validation d'un dossier d'autorisation européen, si ces conditions sont respectées. Cette saisine a été complétée par la saisine n°2010-SA-0204 (AFSSA, 2010b) relative à l'évaluation de l'impact d'un traitement de pascalisation (hautes pressions) sur des plats cuisinés. En 2016, l'ANSES a émis une saisine concernant la pasteurisation assistée par hautes pressions (600 MPa – 65 °C – 10 min) pour la transformation de foies gras avec une date limite de consommation de 80 jours. Cette saisine était nécessaire car ces produits sortent du cadre de la saisine 2010-SA-0193 par l'application de températures supérieures (65 °C) (Arnaud, 2017).

III.LA BIOPRÉSERVATION DES PRODUITS CARNES

III.1. Microbiologie des produits carnés

Le microbiote initial de la viande et des produits carnés est variable, inhérent aux espèces animales et aux étapes de fabrication et manipulation ultérieures. De même, les conditions de stockage, telles que les procédures de conditionnement et la température, influencent également la croissance microbienne pendant la durée de conservation des produits carnés. Une étude effectuée par Chaillou *et al.* (2015) sur quatre différents produits carnés (viande de bœuf, de veau, saucisse et lardons) a montré que les espèces bactériennes détectées étaient similaires à celles décrites dans les microbiotes des animaux. Cette étude a également montré que les conditions de stockage et le traitement de la viande exercent une pression sélective sur les espèces bactériennes, sélectionnant ainsi les populations bactériennes qui se développent durant la conservation des produits.

III.1.1. La flore d'altération

Les bactéries responsables des altérations des produits carnés sont généralement moins étudiées que les bactéries pathogènes. Pourtant, l'altération des produits est problématique à la fois parce qu'elle rend les aliments impropres à la consommation humaine et parce qu'elle entraîne des pertes économiques

importantes lorsque les produits doivent être retirés du marché. Une des raisons de ce manque d'information est que l'altération microbiologique est rarement le fait d'une seule espèce de microorganismes mais d'une combinaison d'espèces qui interagissent.

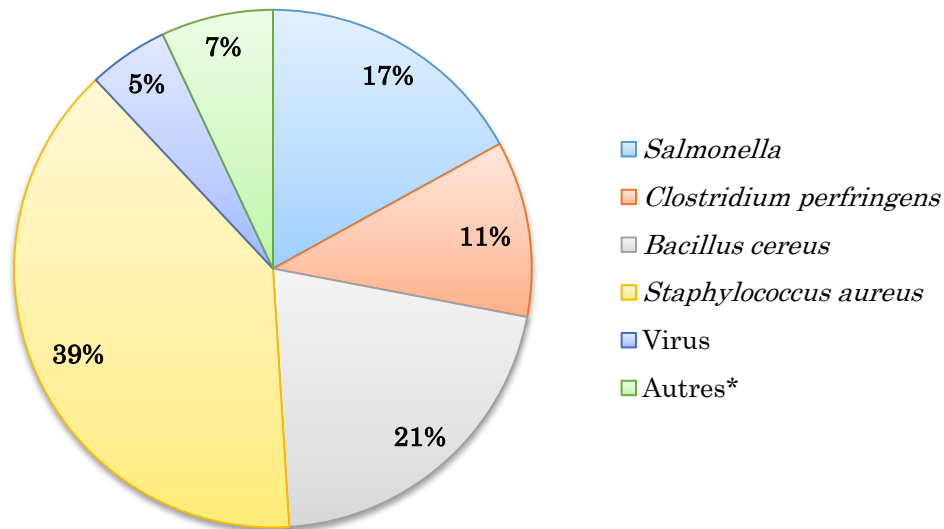
Les bactéries identifiées dans la viande sont majoritairement des bactéries psychrotrophes et anaérobies facultatives du fait de leur aptitude à croître dans un environnement à basse température, sous atmosphère modifiée ou sous vide. Cela conduit au développement de bactéries telles que les entérobactéries : *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Proteus*, *Serratia*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Providencia* ou encore *Pseudomonadaceae*. Les firmicutes sont également bien représentés avec les genres *Brochothrix*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Lactobacillus* et *Lactococcus* (Zagorec & Champomier-Vergès, 2017).

Une fois la cuisson et le conditionnement des produits carnés effectués, une sélection des microorganismes se produit. Après ces étapes, les bactéries lactiques (principalement *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Carnobacterium spp*) et *Brochothrix thermosphacta* dominent couramment le microbiote et sont souvent associés à la détérioration des produits carnés cuits pendant leur stockage et leur commercialisation. La sélection de ces microorganismes s'explique par leur comportement microaérophile, combiné à leur résistance aux nitrites et au NaCl utilisés dans les préparations de produits carnés cuits. Les populations de bactéries lactiques supérieures à 10^8 UFC/g entraînent normalement la détérioration des produits carnés cuits. La formation de butanol, d'acide butyrique et de sulfures par fermentation du glucose, par les bactéries lactiques, conduit à la production de gaz et d'odeurs qui causent la détérioration de la viande et des produits carnés, appelée «Blown packed» (Horita et al., 2017 ; Sohaib et al. 2016).

Les levures et les moisissures ont un taux de croissance lent par rapport aux bactéries et sont généralement incapables de rivaliser avec les bactéries pour les nutriments dans les environnements réfrigérés. Ces microorganismes sont surtout présents sur les carcasses de viande crue et en petite proportion sur la surface des produits carnés (Sohaib et al., 2016).

III.1.2. Les microorganismes pathogènes

Les viandes et produits carnés peuvent également être contaminés par des microorganismes pathogènes. La consommation de viande et de charcuteries a été suspectée être à l'origine de 15 % des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) en France en 2016 (InVs, 2016). Les agents pathogènes impliqués dans ces TIAC sont résumés sur la figure 18.



* *Campylobacter*, Histamine, *Shigella*, *E. coli*, *C. botulinum*, toxine diarrhéique DSP, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio parahaemolyticus*, Ciguatera, *Listeria monocytogenes*

Figure 18 : Répartition des agents pathogènes impliqués dans les TIAC déclarés associés à la consommation de viande et de charcuteries en France en 2016 (InVs, 2016)

La majorité des agents pathogènes transmis par la viande et les produits carnés sont des bactéries mésophiles (par exemple, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *E. coli* O157 : H7) et nécessitent des températures supérieures à 7 °C pour leur croissance. Toutefois, le danger pour la santé lié à ces bactéries n'est pas pour autant réduit pendant le stockage réfrigéré (Mills *et al.*, 2014). Par exemple, aucune perte de viabilité n'a été observée pour *Escherichia coli* O157 : H7 ou *Salmonella* sur du bœuf emballé sous vide ou sous dioxyde de carbone jusqu'à 42 jours de stockage à - 1,5 °C et 4 °C (Dykes *et al.*, 2001).

Entre autres, *Listeria monocytogenes* peut faire partie du microbiote initial de la viande crue, mais il est généralement inactivé lors de l'étape de cuisson des produits carnés. Toutefois, dans le cas d'une contamination post-cuisson, *L. monocytogenes* peut facilement se développer au cours du stockage réfrigéré. En effet, c'est un microorganisme psychrotrophe qui se développe en présence ou en l'absence d'oxygène sur une large gamme de pH (4,1 à 9,6) et dans des concentrations élevées de sel (jusqu'à 13 %). De plus, sa capacité à former des biofilms sur diverses surfaces alimentaires rend difficile le contrôle de *L. monocytogenes*, entraînant sa persistance dans les aliments (Jaroni *et al.*, 2010).

Clostridium perfringens se trouve fréquemment dans les viandes et les produits carnés (bœuf, veau, agneau, porc et produits à base de poulet) par la contamination fécale des carcasses, la contamination par d'autres ingrédients tels que les épices ou par contamination post-traitement (Lianou *et al.*, 2017). D'autres pathogènes psychrotrophes peuvent également être retrouvés dans les produits carnés tels que *Clostridium*

botulinum qui est une bactérie sporulée, *Yersinia enterocolitica*, ou encore *Aeromonas hydrophila* (Lianou *et al.*, 2017, Simonet & Catteau, 2005).

III.2. Principe de la biopréservation

La biopréservation exploite les activités antimicrobiennes de certains microorganismes pour inhiber la croissance des microbes pathogènes et d'altération dans les aliments. Cette approche biologique cherche à minimiser l'addition d'additifs chimiques aux aliments, tels que le nitrite, le chlorure de sodium et les acides organiques (Yost, 2014). Les microorganismes utilisés sont appelés culture protectrice. Il s'agit de bactéries, de levures ou de moisissures vivantes et sans danger utilisées dans la production alimentaire, et elles sont considérées elles-mêmes comme ingrédient alimentaire. Les cultures protectrices sont des préparations composées de concentrés (>10⁸ UFC/g ou ml) d'une ou plusieurs espèces et/ou souches microbiennes vivantes et actives (EFFCA, 2015). Les cultures protectrices sont traditionnellement utilisées comme ingrédients alimentaires à une ou plusieurs étapes du processus de fabrication des aliments pour développer l'activité métabolique souhaitée et ainsi inhiber les bactéries pathogènes et/ou altérantes et prolonger la durée de vie en changeant le moins possible les propriétés organoleptiques (Rodgers, 2001).

III.3. La biopréservation par les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques de qualité alimentaire répondent aux exigences de la biopréservation car elles se sont révélées non toxiques pour l'homme, n'altèrent pas les propriétés nutritionnelles des aliments, sont efficaces à de faibles concentrations, sont actives sous stockage réfrigéré et sont même considérées comme possédant des effets favorables à la santé (Nes *et al.*, 2011). De plus, à l'exception de quelques espèces appartenant aux genres *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Carnobacterium*, les bactéries lactiques sont non pathogènes avec un statut généralement reconnu comme sûr (Generally Recognized As Safe) ou de qualité alimentaire.

Les bactéries lactiques constituent un groupe très hétérogène en termes de classification. Avec la disponibilité de méthodologies moléculaires améliorées telles que le séquençage du gène de l'ADNr 16S et des études sur la diversité microbienne de différents environnements, de nombreuses espèces ont été découvertes et identifiées. Ainsi, le groupe hétérogène de bactéries lactiques comprend environ 450 espèces réparties comme suit (Tumbariski *et al.*, 2018 ; Mozzi, 2016 ; Dortu & Thonart, 2009) :

- | | |
|------------------------------|------------------------------|
| - <i>Aerococcus</i> : 7 | - <i>Leuconostoc</i> : 23 |
| - <i>Alloiococcus</i> : 1 | - <i>Pediococcus</i> : 15 |
| - <i>Carnobacterium</i> : 12 | - <i>Oenococcus</i> : 2 |
| - <i>Dolosigranulum</i> : 1 | - <i>Streptococcus</i> : 101 |
| - <i>Enterococcus</i> : 49 | - <i>Tetragenococcus</i> : 5 |
| - <i>Globicatella</i> : 2 | - <i>Vagococcus</i> : 8 |
| - <i>Lactobacillus</i> : 189 | - <i>Weisella</i> : 18 |
| - <i>Lactococcus</i> : 7 | |

Les descriptions générales du groupe comprennent des caractéristiques telles que : Gram positif, non sporulée, catalase négatif, aéro-anaérobie facultatif ou anaérobie strict, tolérant aux acides, qui produisent de l'acide lactique comme produit final principal pendant la fermentation des glucides (Settanni & Moschetti, 2010). Elles sont très adaptables et il est déjà bien connu qu'elles ont une grande diversité métabolique. Elles peuvent survivre dans une large gamme de conditions environnementales couvrant une plage de pH de 3,2 à 9,6 et des températures de 5 à 45 °C (Van de Guchte, 2002 ; Axelsson & Ahrné, 2000 ; Caplice, 1999).

III.3.1. Les mécanismes antimicrobiens des bactéries lactiques

Les différentes activités antimicrobiennes des bactéries lactiques diffèrent selon les espèces et les souches. De plus, les activités antagonistes peuvent varier de bactériostatiques (inhibant la croissance) à bactéricides (létales) et peuvent affecter un large spectre de bactéries ou seulement un groupe d'organismes limité. Les activités antagonistes des bactéries lactiques contre d'autres bactéries dans les aliments sont attribuées à plusieurs mécanismes cités ci-après.

a. La compétition nutritionnelle et pour l'espace

Du fait de leurs importantes exigences nutritionnelles, les bactéries lactiques envahissent complètement le milieu. Ainsi, par leur présence, elles peuvent inhiber la multiplication de certains microorganismes d'altération ou pathogènes colonisateurs (Castellano *et al.*, 2017). La croissance des bactéries dans les aliments dépend des quantités de nutriments disponibles et de divers facteurs intrinsèques et extrinsèques à la matrice alimentaire, tels que la concentration de NaCl. Si un produit est inoculé avec un grand nombre de bactéries lactiques capables de croître dans le produit et que les conditions sont telles que les concentrations de nutriments limitent ou augmentent la croissance, la croissance d'autres bactéries utilisant les mêmes nutriments peut être inhibée (Yost, 2014).

En effet, la compétition pour les nutriments sélectionne les microorganismes les plus capables de récupérer les composés limitants tels que les minéraux, les acides aminés, les sucres. Cette compétition des bactéries lactiques pour les nutriments essentiels a été mise en évidence pour plusieurs microorganismes : *Staphylococcus aureus*, *Listeria spp*, *Leuconostoc spp*, *Brochetrix thermosphacta* (Charlier *et al.*, 2009 ; Vermeiren *et al.*, 2004)

b. La production de métabolites possédant des propriétés antimicrobiennes

- **Acides organiques** : Les bactéries lactiques produisent des acides organiques par fermentation de glucides. Les bactéries lactiques homofermentaires (*Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* et certaines espèces de *Lactobacillus*) produisent principalement de l'acide lactique, tandis que les espèces hétérofermentaires (*Leuconostoc*, *Oenococcus* et certaines espèces de *Lactobacillus*) produisent de l'acide acétique et lactique et, à divers degrés, d'autres acides tels que formique, citrique et maléique (Gänzle, 2015). Les activités inhibitrices sont principalement dues à la réduction du pH avec une augmentation de la concentration de H⁺ dans l'aliment. Le pH peut être réduit à des

valeurs proches ou inférieures aux minima pour la croissance d'agents pathogènes. L'acide non dissocié est relativement lipophile et peut pénétrer la membrane bactérienne pour libérer les H⁺ dans le cytoplasme et engendre la réduction du pH intracellulaire des bactéries pathogènes. Ensuite, pour survivre, les bactéries doivent utiliser l'énergie pour transporter les H⁺ hors des cellules. Ceci provoque une déplétion énergétique et un stress cellulaire (Yost, 2014).

- **Peroxyde d'hydrogène** : Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) est produit par les bactéries lactiques en présence d'oxygène lors de la fermentation des sucres. L'effet antimicrobien du peroxyde d'hydrogène peut résulter de l'oxydation de groupes sulfhydryles provoquant la dénaturation d'un certain nombre d'enzymes, et de la peroxydation des lipides membranaires, augmentant ainsi la perméabilité de la membrane. H₂O₂ peut également servir de précurseur à la production de radicaux libres bactéricides tels que les radicaux superoxyde (O₂⁻) et le groupement hydroxyle (OH•) capables d'endommager l'ADN bactérien (Ammor *et al.*, 2006).
- **Dioxyde de carbone** : Le CO₂ est principalement formé pendant la fermentation des hexoses suivant la voie hétérofermentaire. Le dioxyde de carbone a un double effet antimicrobien. Sa formation crée un environnement anaérobie qui inhibe la croissance de certains microorganismes aérobies tels que la flore d'altération psychrophile à Gram négatif. De plus, l'accumulation du dioxyde de carbone dans la membrane lipidique de la cellule cible pourrait modifier sa perméabilité (Ouweland & Vesterlund, 2004)
- D'autres composés peuvent également être produits par les bactéries lactiques tels que le diacétyle ou la reutéline.

Quelques exemples de composés antimicrobiens, autres que les bactériocines, sécrétés par les bactéries lactiques sont présentés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Composés antimicrobiens (autres que les bactériocines) sécrétés par les bactéries lactiques (De Vuyst & Vandamme, 1994).

Composés antimicrobiens	Souches productrices	Spectre antimicrobien
Acide acétique	Toutes les bactéries lactiques	Levures Bactéries à Gram +/-
Acide lactique	Bactéries lactiques hétérofermentaires	Levures Bactéries à Gram +/-
Diacétyle	<i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i>	Levures Bactéries à Gram +/-
Peroxyde d'hydrogène	Toutes les bactéries lactiques	Levures Bactéries à Gram +/-
Dioxyde de carbone	Bactéries lactiques hétérofermentaires	La plupart des groupes taxonomiques de microorganismes
Reutéline	<i>Lactobacillus reuteri</i>	Champignons, Protozoaires Bactéries à Gram +/-

- **Les bactériocines** : Ce sont des protéines, ou complexes de protéines, avec une activité bactéricide contre des espèces proches de la souche productrice. Les bactériocines représentent une large classe de substances antagonistes qui varient considérablement du point de vue de leur poids moléculaire, de leurs propriétés biochimiques, de leur spectre et mode d'action (Dortu & Thonart, 2009). Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont réparties en quatre classes présentées dans le tableau 10.

Tableau 10 : Classification des bactériocines (Reis *et al.*, 2012)

Classe	Description de la structure chimique et moléculaire	Stabilité thermique	Exemples
Classe I Lantibiotiques	- Cycles thioester dans la séquence - Poids moléculaire < 5 kDa	Stable	Nisine Lactacine 481 Carnocine U149 Lactocine S
Classe II Peptides anti-<i>Listeria</i>	- IIa : poids moléculaire < 10 kDa - IIb : association de 2 peptides pour l'activité, poids moléculaire < 10 kDa	Stable	Lactococcine MMF2 Sakacine G Lactococcine G Lacticine F
Classe III	Poids moléculaire < 30 kDa	Sensible	Helvéticine J Helvéticine V-1829 Lactacine A et B
Classe IV	Mélange indéfini de protéines, lipides et sucres	Stable	Plantaricine S Leuconocine S Lactocine 27 Pediocine SJ1

La bactériocine la plus connue est la nisine produite, par *Lactococcus lactis*. Elle est autorisée comme additif alimentaire aux États-Unis depuis 1968 et en Europe (E234) depuis 1995. Les quantités autorisées en Europe sont fixées par la directive 95/2/EC (European Food Safety Agency, 2006). Il s'agit à l'heure actuelle de la seule bactériocine autorisée comme additif alimentaire (Guinane *et al.*, 2005).

Le mécanisme d'action de la nisine est double : **(a)** l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire et **(b)** la formation de pores dans la membrane cellulaire (Figure 19). Les deux mécanismes sont facilités par la liaison de la molécule de nisine au lipide II, principal transporteur de sous-unités de peptidoglycane, les éléments constitutifs de la paroi cellulaire bactérienne. La liaison de la nisine au lipide II empêche la synthèse adéquate de la paroi cellulaire, provoquant ainsi la mort cellulaire. Le complexe nisine-lipide II peut également conduire à la formation de pores dans la membrane cellulaire. Ceci entraîne la fuite de composants cellulaires tels que les ions et l'ATP (Perez *et al.*, 2015).

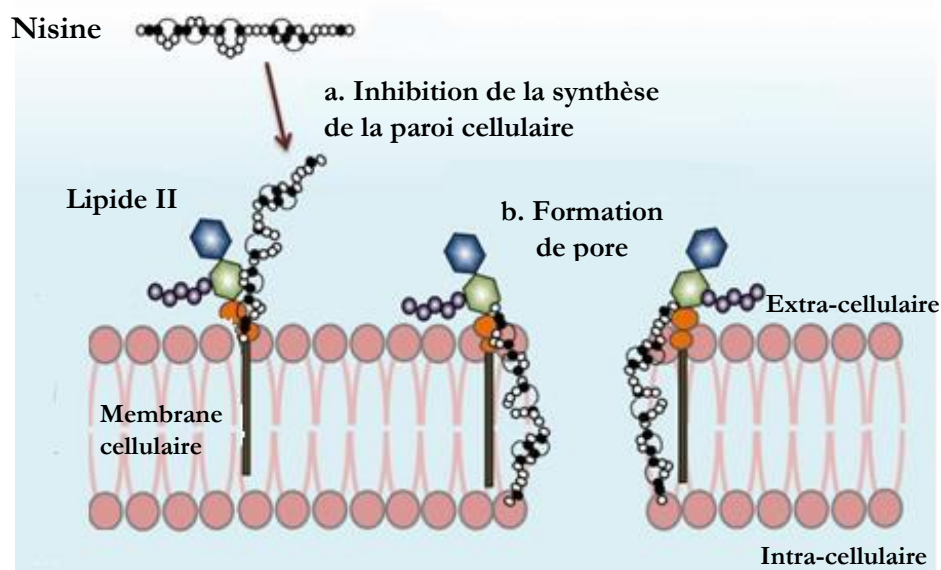


Figure 19 : Mode d'action de la nisine (Perez *et al.*, 2015)

III.3.2. Application de la biopréservation à la conservation des produits carnés

Diverses stratégies ont été utilisées pour la biopréservation des produits carnés, et pour améliorer les effets antibactériens des cultures protectrices dans les systèmes alimentaires.

a. Utilisation de la bactérie productrice de métabolites antimicrobiens

L'utilisation directe des cellules productrices de métabolites antimicrobiens est l'une des stratégies les plus pratiques qui semblent plus réalisables d'un point de vue économique et avec des restrictions juridiques moindres par rapport à l'ajout direct de bactériocines purifiées. En tant que culture protectrice, l'utilisation de bactéries lactiques a pour but d'inhiber la croissance de bactéries indésirables sans causer de modifications physico-chimiques et sensorielles de la viande ou des produits carnés (Woraprayote *et al.*, 2016). Un certain nombre de facteurs doit être pris en compte lors du choix de la culture bactériocinogène, comme la capacité à produire une bactériocine dans les conditions étudiées, la diffusion dans la matrice alimentaire, l'interaction avec les autres composants alimentaires, l'absence de tout caractère pathogène, l'absence de résistance aux antibiotiques (Gálvez *et al.*, 2007). Des exemples d'application de culture bioprotectrice aux viandes, produits carnés et produits de la mer sont présentés dans le tableau 11.

b. Utilisation de la bactériocine

L'incorporation de bactériocines en tant qu'ingrédient est l'approche couramment utilisée qui s'est également avérée efficace dans la lutte contre les microorganismes pathogènes et d'altération dans la viande et les

produits carnés. Cette technique d'application est préférable lorsque les bactéries lactiques ne peuvent pas produire de bactériocine dans les systèmes de viande réels. Les préparations de bactériocines utilisées peuvent être partiellement purifiées ou purifiées (Castellano *et al.*, 2017). L'incorporation directe des bactériocines permet de connaître exactement la quantité mise en oeuvre dans l'aliment, cependant cette stratégie peut aussi présenter des inconvénients. En effet, la nisine est par exemple relativement insoluble à des pH supérieurs à 5, ce qui pourrait poser des problèmes d'homogénéité dans la matrice alimentaire (Scannell, 1997). Des exemples d'application de bactériocine dans les viandes et produits carnés sont présentés dans le tableau 12.

c. Incorporation de la bactériocine au packaging

L'ajout direct de bactériocines dans la matrice alimentaire et / ou à la surface des aliments peut entraîner une certaine perte d'activité en raison de l'effet de dilution pouvant entraîner une diminution de l'efficacité des bactériocines. De plus, les substances actives peuvent diffuser rapidement de la surface dans la masse alimentaire et ainsi avoir un effet limité sur la flore de surface (Woraprayote, 2016). Ainsi, l'utilisation d'emballage contenant des agents antimicrobiens protège les bactériocines de l'inactivation par interaction avec des composants alimentaires mais permet également une migration lente des agents du matériau d'emballage vers la surface du produit, contribuant ainsi à maintenir des concentrations élevées en agents antimicrobiens. Si un antimicrobien peut être libéré de l'emballage pendant une période prolongée, l'activité peut également être étendue à la phase de transport et de stockage de la distribution alimentaire (Realini & Marcos, 2014 ; Quintavalla & Vicini 2002).

Tableau 11: Exemples de culture bioprotectrice appliquée aux viandes, produits carnés et produits de la mer

Bactéries lactiques	Cibles	Matrice	Références
<i>Lactobacillus spp</i>	<i>Clostridium spp</i>	Salami	Di Goia <i>et al.</i> (2016)
<i>Lactococcus lactis</i> <i>Lactobacillus sakei</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Bacon	Comi <i>et al.</i> (2016)
<i>Lactobacillus sakei</i>	<i>Salmonella enterica</i> Typhimurium, <i>Escherichia coli</i> O157:H7	Viande de bœuf hachée	Chaillou <i>et al.</i> (2014)
<i>Lactobacillus sakei</i> C2	Flore aérobic mésophile	Saucisse fermentée	Gao <i>et al.</i> (2014)
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Saucisse de volaille	Akbar & Anal (2014)
<i>Spectrococcus phocae</i> PI 80	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> , coliformes, <i>Listeria monocytogenes</i>	Produits de la mer	Paari <i>et al.</i> , (2011)
<i>Lactobacillus curvatus</i> CRL705	Bactéries lactiques, <i>Brochothrix thermosphacta</i> , <i>Listeria spp.</i>	Viande de bœuf sous vide	Castellano <i>et al.</i> (2010)
<i>Leuconostoc Carnosum</i> 3M42	Flore aérobic mésophile	Jambon cuit artisanal	Vasilopoulos <i>et al.</i> (2010)
<i>Enterococcus faecium</i> PCD71 <i>Lactobacillus fermentum</i> ACA-DC179	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella enteridis</i>	Viande de poulet	Maragkoudakis (2009)
<i>Lactobacillus sakei</i> B-2	Flore aérobic mésophile	Jambon cuit sous vide	Hu <i>et al.</i> (2008)
<i>Lactobacillus sakei</i> 10A	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Jambon cuit	Vermeiren <i>et al.</i> (2006)
<i>Carnobacterium spp</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Brochothrix thermosphacta</i>	Saumon fumé	Brillet <i>et al.</i> (2005)

Tableau 12 : Exemples d'application de bactériocine dans la viande et produits carnés d'après Castellano *et al.* (2017) et Woraprayote *et al.* (2016)

Bactériocine et bactérie lactique producteur	Produit	Cibles	Référence
Cocktail de bactériocines de différentes classes	Hotdog	<i>Listeria monocytogenes</i>	Vijayakumar & Muriana (2017)
Nisine	Jambon cuit	Flore totale et bactéries lactiques	Kalschne <i>et al.</i> (2014)
Nisine commerciale	Bœuf haché	<i>Staphylococcus aureus</i>	Millette <i>et al.</i> (2007)
Bactériocine isolée de <i>Pediococcus acidilactici</i>	Viande de porc crue	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Clostridium perfringens</i>	Nieto-Lozano <i>et al.</i> (2006)
Lactocine 705 et AL705 <i>Lactobacillus curvatus</i> CRL705	Viande de bœuf crue sous vide	<i>Brochothrix thermosphacta</i> , <i>Listeria innocua</i>	Castellano & Vignolo (2006)
Leucocines 4010 <i>Leuconostoc carnosum</i> 4010	Saucisse de porc cuite sous gaz (ajouté à la viande avant embossage et cuisson et en surface après cuisson)	<i>Listeria monocytogenes</i>	Jacobsen <i>et al.</i> (2003)
Nisine commerciale Nisaplin	Bœuf cru sous vide	<i>Salmonella thyphimurium</i> , <i>Brochothrix thermosphacta</i>	Tu & Mustapha (2002)
Enterocines A et B <i>Enterococcus faecium</i> CTC492	Jambon cuit (application en surface), viande de porc (mixé avec la viande), saucisse fumée (mixé avec la viande)	<i>Listeria innocua</i>	Aymerich <i>et al.</i> (2000)

III.4. Combinaison de la biopréservation et du traitement par hautes pressions sur les produits carnés

Le concept de technologie barrière (hurdle technology) a commencé à s'appliquer dans l'industrie alimentaire après l'observation que la survie des microorganismes diminuait considérablement lorsqu'ils étaient confrontés à de multiples facteurs antimicrobiens. Après exposition d'une population bactérienne à un seul facteur antimicrobien, il existe souvent une réponse hétérogène, en fonction de l'intensité du traitement ainsi que de nombreux autres facteurs. Une fraction de la population peut être impactée par le facteur antimicrobien, entraînant la mort cellulaire tandis que la fraction restante peut survivre (résistance face au traitement, sporulation...). L'utilisation d'une combinaison de traitements permet donc de causer plus de dommages sur les cellules microbiennes puisque plusieurs traitements agissent sur la même cible cellulaire. C'est dans cette optique que le traitement par hautes pressions a été combiné avec la biopréservation (Gálvez *et al.*, 2007 ; Leistner, 2000). Les études (tableau 13) sont surtout axées sur la combinaison des hautes pressions avec l'utilisation des bactériocines plus que les bactéries bactériocinogènes.

Tableau 13 : Utilisation de la biopréservation combinée aux hautes pressions sur les produits carnés

Bactériocine/bactérie lactique et barème de traitement	Produits carnés	Effet du traitement combiné	Référence
<i>Pediococcus acidilactici</i> 300 MPa - 10 °C - 5 min	Saucisse cuite	Pas d'effet sur <i>L. innocua</i>	Castro <i>et al.</i> (2017)
bacHA-6111-2 isolée de <i>Pediococcus acidilactici</i> 300 MPa - 10 °C - 5 min		Inactivation de <i>L. innocua</i>	
Enterocine LM-2 400 MPa - 17 °C - 10 min	Jambon cuit	Augmentation de la durée de vie jusqu'à 90 jours A 90 jours de stockage à 4 °C : - Réduction de 7 log UFC/g de <i>L. monocytogenes</i> - Inhibition de <i>S. enteridis</i> - Réduction de 4 log UFC/g de la flore totale	Liu <i>et al.</i> (2012b)
Nisine 500 MPa - 12 °C - 10 min	Jambon sec	A 60 jours de stockage à 8 °C : réduction de 3 log UFC/g de <i>Escherichia coli</i> O157:H7	de Alba <i>et al.</i> (2013)
Enterocine AS-48 400 MPa - 17 °C - 10 min	Saucisse fermentée	A 30 jours de stockage à 7 °C : maintien de <i>L. monocytogenes</i> et <i>S. enterica</i> en dessous de 1 log UFC/g	Ananou <i>et al.</i> (2010)
Nisine 400 MPa - 17 °C - 10 min	Jambon cuit	A 30 jours de stockage à 6 °C : inhibition de <i>Salmonella spp</i>	Jofré <i>et al.</i> (2008)

Par ailleurs, la combinaison d'un traitement par hautes pressions avec l'ajout de bactériocines dans les matrices alimentaires peut permettre une inactivation synergique des spores. En effet, l'initiation de la germination des spores par le traitement hautes pressions permet l'action de bactériocines qui sont actives seulement sur les spores germées. Toutefois, cet effet synergique dépend aussi bien de la matrice (pH,

composition) que de la concentration en bactériocine utilisée. En effet, Modugno *et al.* (2017) ont montré que le traitement par hautes pressions (500 MPa, 20 °C, 10 min) pouvait conduire à une perte partielle de la l'activité antimicrobienne de la nisine.

III.5. Règlementation concernant l'utilisation des flores protectrices dans les aliments

L'utilisation des ferments à des fins de conservation n'est pas encore soumise à une réglementation spécifique en Europe. Actuellement, seuls les ferments utilisés pour les produits fermentés s'inscrivent dans la réglementation européenne en tant qu'ingrédients alimentaires et leur première fonction est d'assurer un niveau élevé de sécurité aux consommateurs (règlements 852/2004 et 853/2004).

Toutefois, plusieurs approches proposent des lignes directrices pour évaluer l'innocuité des microorganismes utilisés dans l'alimentation, comme cela est fait aux Etats-Unis par la FDA (Food & Drug Administration) avec le statut GRAS (Generally Recognized As Safe). C'est le cas des recommandations émises par l'EFSA (Autorité européenne de sécurité des aliments) sur l'évaluation QPS (Qualification de Sûreté Présumée). Le système QPS permet d'harmoniser l'évaluation de la sécurité avant la mise en marché de certains groupes de micro-organismes utilisés dans les fabrications alimentaires et l'alimentation animale (EFSA, 2007). QPS est applicable aux additifs alimentaires et aux aliments pour animaux, aux enzymes alimentaires et aux produits phytopharmaceutiques.

Le système QPS propose qu'une évaluation de la sécurité d'un groupe taxonomique défini (par exemple, genre ou groupe d'espèces apparentées) puisse être établie sur la base de quatre piliers : établissement de l'identité, corpus de connaissances, pouvoir pathogène possible et utilisation finale. Si le groupe taxonomique ne soulève pas de problèmes de sécurité ou, si des problèmes de sécurité existent, mais peuvent être définis et exclus, le groupe peut se voir accorder le statut QPS. Par la suite, toute souche de microorganisme dont l'identité pourrait être établie sans ambiguïté et assignée à un groupe QPS serait libérée de la nécessité d'une évaluation de la sécurité supplémentaire autre que la satisfaction des qualifications spécifiées. Les microorganismes jugés inappropriés pour le QPS resteraient soumis à une évaluation de sécurité complète. Ainsi, l'EFSA a défini une liste d'espèces pour lesquelles le statut QPS a été accordé (EFSA, 2018). Il existe également une liste d'espèces microbiennes présentant un intérêt technologique pour l'alimentation, proposée par des fédérations professionnelles (Bourdichon *et al.*, 2012).

PARTIE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. Sélection des souches de biopréservation

La sélection des souches de biopréservation a été effectuée par les partenaires du projet BLacHP : UMR SECALIM, INRA, IFIP et CTCPA. Le protocole de sélection des souches a fait l'objet d'une publication par Ramarosan *et al.* (2018). L'objectif était de sélectionner, parmi 63 souches de bactérie lactique de différentes origines, celles qui pouvaient résister au procédé hautes pressions et exercer une action antagoniste contre les espèces sporulantes de *Bacillus* et de *Clostridium*. La procédure de sélection de ces souches de bioprotection comprenait également une évaluation de l'innocuité (évaluation de la production d'amines biogènes et de la résistance aux antibiotiques) afin qu'elles puissent être utilisées dans l'alimentation. Le protocole de sélection des souches est présenté en annexe (Annexe 1). A l'issue de cette sélection, une souche de *Lactobacillus curvatus* et une souche de *Lactococcus lactis* ont finalement été sélectionnées pour leur large spectre d'inhibition et leur production potentielle de bactériocine. Leur résistance aux hautes pressions et leur capacité à croître pendant le stockage réfrigéré ont ensuite été évaluées dans un milieu liquide de jambon modèle. Des traitements à différentes durées et niveau de pression ont été réalisés et les cultures ont été incubées à 8 °C pendant 30 jours après pression. Bien que la souche de *L. curvatus* ait été plus résistante au traitement par hautes pressions que le *L. lactis*, cette dernière était la seule souche capable de reprendre en croissance après le traitement par hautes pressions.

II. Fabrication du jambon cuit

La fabrication du jambon cuit a été effectuée selon la méthode de Thomas *et al.* (2013) et qui est inspirée de la fabrication industrielle proposée par l'IFIP (Institut Français du Porc). Toutes les étapes de la fabrication ont été réalisées dans la salle de découpe réfrigérée de la halle de technologie d'ONIRIS. La température est maintenue à 10 °C pendant toute la durée de la fabrication pour limiter au maximum les phénomènes d'oxydation et le développement microbien.

II.1. Matière première

L'approvisionnement en viande s'est effectué au magasin Leclerc Orvault Conraie. Les viandes utilisées proviennent de la même partie anatomique du porc qui est le *Longissimus dorsi*. Une fabrication est réalisée avec un même lot de viande, choisi de manière à ce que la fabrication débute avec de la viande issue d'un animal mort depuis 4 jours. Le pH de la viande est vérifié en début de process à l'aide d'une électrode à solide avec sonde de température intégrée (Mettler Toledo, Columbus, Etats-Unis) et calibrée avec des solutions à pH 7,0 puis 4,0. Le relevé du pH se fait à 3 différents endroits du muscle. Seules les pièces ayant un pH entre 5.5 et 6 sont retenues.

II.2. La fabrication du jambon cuit

Le diagramme fabrication du jambon cuit dans le cadre de cette étude est présenté sur la Figure 20.

- **Le parage et la découpe** : Les pièces de viande sont parées, un maximum de gras est enlevé puis elles sont découpées de manière à avoir des morceaux d'environ 40 g.
- **La préparation de la saumure** : La composition de la saumure est basée sur celle utilisée pour le jambon supérieur certifiée « bio » c'est-à-dire sans polyphosphate, avec une teneur en sucre inférieure à 1 % et un taux d'incorporation de nitrite à 25 ppm.
- **Le saumurage** est effectué par immersion dans la saumure à un taux d'injection de 10 % de la masse de viande. Les morceaux de viandes sont placés dans un sac polyamide/polyéthylène (PA/PE) (La Bovida, Nantes, France), la saumure y est ajoutée et le vide est effectué (Vacuboy Komet, Plochingen, Allemagne). Un suremballage est ajouté pour palier un perçage du sac lors du malaxage.
- **Le malaxage discontinu** est effectué dans un mélangeur à pales (mélangeur GLASS GmbH & Co, Frankfort, Allemagne) placé dans une chambre réfrigérée, pendant 17 h avec des périodes de travail et de repos alternées (travail : 7.5 rpm - 15 min, repos : 15 min).
- **Le moulage** : Les morceaux de viande saumurés sont placés dans des moules (terrines en polypropylène 50 cl, La Bovida, Nantes, France). Ils sont empilés de manière à laisser le moins d'espaces possible entre les morceaux pour avoir une meilleure tenue de tranche du produit fini. Les viandes moulées sont ensuite conditionnées sous vide (Vacuboy, Komet, Plochingen, Germany).
- **La cuisson** est effectuée par palier de façon à atteindre une température à cœur de 65 °C : 40 °C pendant 60 min puis 55 °C pendant 60 min et enfin 65 °C pendant 150 min. Il s'agit d'une cuisson avec chaleur humide (four Rational, France)
- **Le refroidissement** est réalisé à température ambiante pendant 20 min puis les viandes cuites sont stockées à 4 °C pendant 3 jours. Après le stockage, on obtient le jambon cuit « supérieur »
- **Le cubage** : le jambon cuit est ensuite découpé en cubes d'une dimension de 1,5 cm de côté.

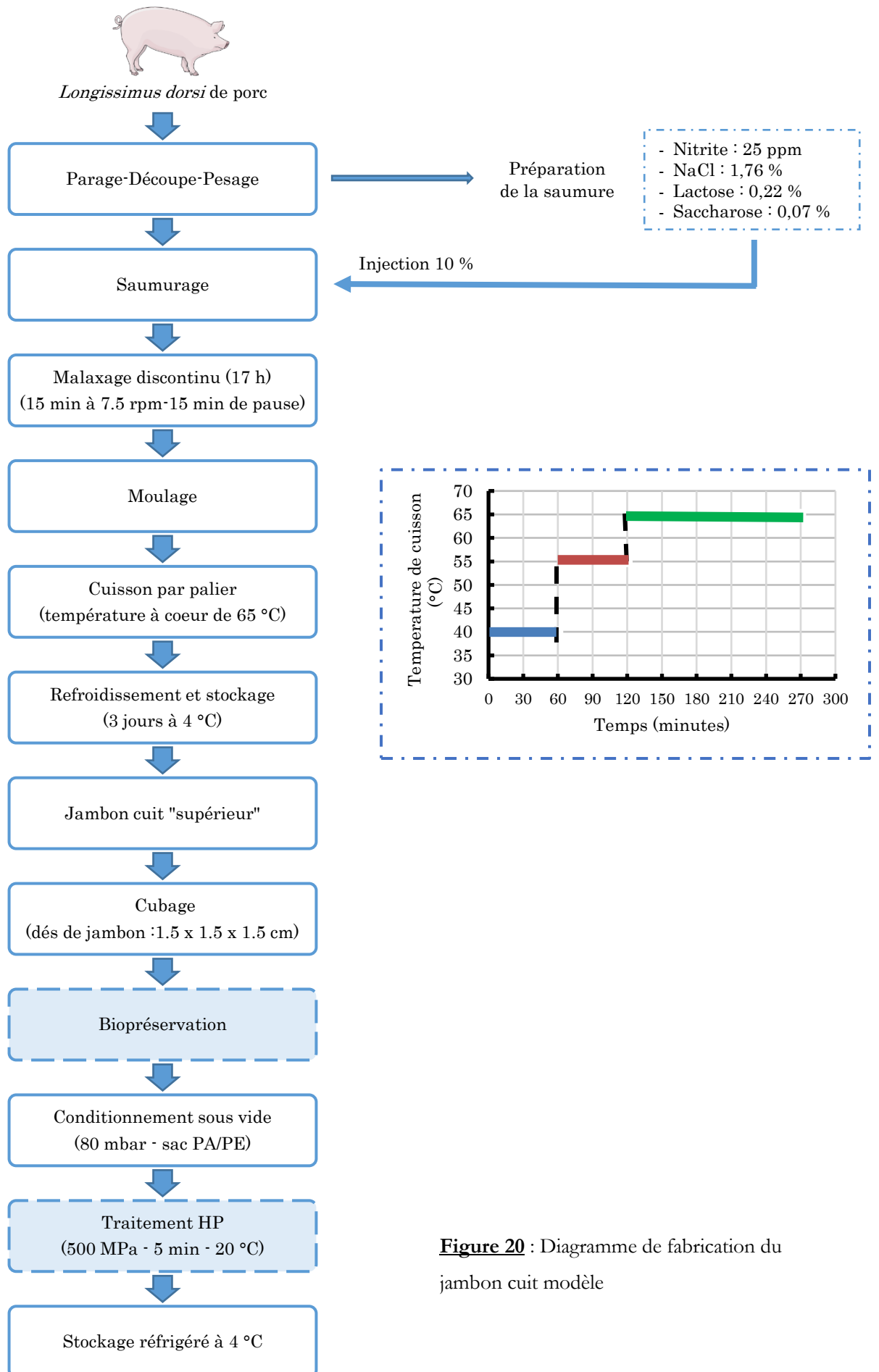


Figure 20 : Diagramme de fabrication du jambon cuit modèle

II.3. Le protocole de biopréservation

Les souches de biopréservation sont fournies par Hansen qui est partenaire du projet BLacHP. Il s'agit d'une souche de *Lactococcus lactis* sp *lactis* (BS 30, CHR Hansen, France) qui est une souche prévue pour une utilisation en industrie. L'utilisation d'une souche commerciale a été privilégiée afin de s'affranchir des différentes étapes de culture et de purification d'une souche de laboratoire, mais également afin de se mettre dans des conditions similaires à celles utilisées en industrie. Les souches sont reçues congelées et sont immédiatement stockées à -80 °C jusqu'à leur utilisation. Elles sont conditionnées sous forme de paillettes lyophilisées. Le jour de leur utilisation pour la biopréservation, le lyophilisat est mis en suspension dans de l'eau distillée sans décongélation préalable. La dilution est réalisée de façon à obtenir un ensemencement de 10⁶ UFC / g de jambon (selon les indications de Hansen, le fournisseur des souches).

La biopréservation des cubes de jambon cuit est réalisée par pulvérisation en surface de la suspension de bactérie lactique. La pulvérisation est effectuée à l'aide d'un flacon en verre monté d'une pompe spray stérilisée qui permet une vaporisation en brume dense et fine de la suspension. Après la pulvérisation des souches, les cubes de jambon cuit biopréservés sont placés à 4 °C pendant 1 h puis transférés dans des sacs PA/PE et conditionnés sous vide (80 mbar) pour être stockés ou traités par hautes pressions.

II.4. Le traitement par hautes pressions

L'ensemble des traitements par hautes pressions a été réalisé dans la Halle de technologie d'ONIRIS à Nantes avec un pilote en position verticale en acier inoxydable (ACB Ateliers et Chantiers de Bretagne, Nantes, France) qui mesure 120 mm de diamètre et 300 mm de hauteur utile pour un volume interne de 3,5 l (figure 21). Le mode de pressurisation est indirect avec l'eau distillée comme fluide de pressurisation. Une double enveloppe permet de contrôler la température dans l'enceinte. La température de l'eau est régulée par un cryothermostat (Julabo, Seelbach, Allemagne). La vitesse de compression est de 3 MPa/s et la décompression est quasi immédiate (< 2s). Les cubes de jambon préalablement conditionnés sous vide sont insérés dans l'enceinte. Le traitement est lancé selon les critères de temps et de pression sélectionnés qui sont de 500 MPa pendant 5 minutes à 20 °C. Un système de régulation automatique permet de programmer et de suivre les consignes de traitement et de visualiser la cinétique de montée en pression. Après traitement, les échantillons sont stockés à 4 °C. Les analyses commencent le lendemain du traitement (J+1), puis après 7, 14 et 21 jours (J+7, J+14, J+21).



Figure 21 : Pilote hautes pressions ONIRIS

III. Analyses microbiologiques du jambon cuit

L'impact des différents traitements (hautes pressions, biopréservation et combinaison biopréservation/hautes pressions) sur la flore endogène du jambon cuit a été évalué. Ainsi, un dénombrement de la flore mésophile aérobie ainsi que des bactéries lactiques a été effectué suivi d'une identification des souches dénombrées.

III.1. Dénombrement de la flore endogène

Le dénombrement de la flore endogène a été effectué sur les cubes de jambon cuit fabriqués puis traités dans la halle de technologie d'ONIRIS. La flore aérobie mésophile a été dénombrée selon la norme NF EN ISO 4833 sur milieu PCA (Plate Count Agar). Quant à la flore lactique, elle a été dénombrée sur milieu M17 qui est un milieu spécifique pour le dénombrement de *L. lactis* qui est la souche de biopréservation utilisée.

Dix grammes d'échantillon sont déposés dans un sac stérile (BagPage®, Interscience, Saint-Nom, France) puis dilués au dixième avec de l'eau peptonée stérile (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, Etats-Unis). Le mélange est ensuite homogénéisé au stomacher (Grosseron, Couëron, France) pendant 2 x 90 s. Des dilutions en cascade sont ensuite préparées dans de l'eau peptonée. L'ensemencement est effectué à hauteur de 1 ml en profondeur pour la flore aérobie mésophile et 100 µl en surface pour les bactéries lactiques. Chaque échantillon a été analysé en triplicat et pour chaque dilution 6 boîtes ont étéensemencées. Les boîtes sont ensuite incubées à 30 °C pendant 72 h. Seules les boîtes avec un nombre de colonies compris entre 25 et 300 sont retenues. Les résultats sont exprimés en log UFC/ g (Unité Formant Colonie) et la limite de détection est de 1 log UFC/g.

III.2. Identification des colonies dénombrées

III.2.1. Isolement des colonies sur membrane FTA

Après dénombrement, 15 à 20 colonies dénombrées sur PCA sont prélevées pour identification. Les colonies sont prélevées stérilement avec une öse sous un poste de sécurité microbiologique. Elles sont ensuite mises en suspension dans 15 µl de solution de NaCl 9 ‰ puis 10 µl de cette suspension sont déposés sur une membrane FTA® (Whatman, GE Healthcare, Royaume-Uni) (Figure 22). La technologie FTA® est une méthode conçue pour simplifier la collecte, l'expédition, l'archivage et la purification des acides nucléiques. Les cartes FTA® sont imprégnées d'une formule chimique brevetée qui lyse les membranes cellulaires et dénature les protéines. Les acides nucléiques sont physiquement piégés, immobilisés et stabilisés pour être stockés à température ambiante pendant plusieurs années.

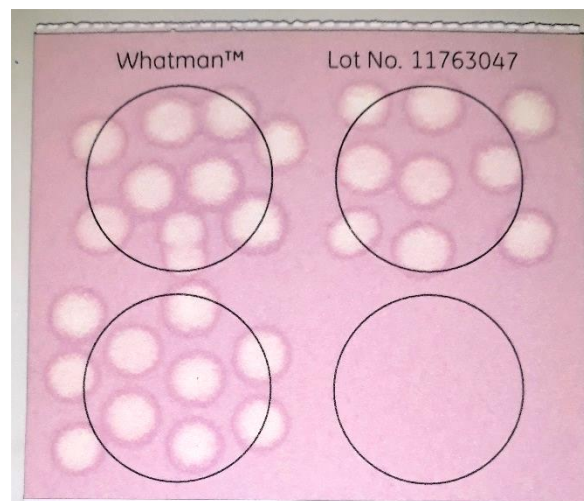


Figure 22 : Dépôt de colonies sur membrane FTA®

III.2.2. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

Dans le but d'identifier les isolats déposés sur membrane FTA®, leur ADN a été utilisé pour amplifier l'ADNr 16s par réaction de polymérase en chaîne (PCR).

a. Principe

La PCR (Polymerase Chain Reaction) est une technique d'amplification d'ADN *in vitro*. Elle permet d'obtenir un très grand nombre de copies d'un fragment d'ADN particulier (ADN d'intérêt ou ADN cible) à partir d'un extrait d'ADN (ADN matriciel). En effet, si la séquence d'intérêt est présente dans l'extrait d'ADN, il est possible de sélectivement la répliquer (amplification) en très grande quantité. La puissance de la PCR repose sur le fait que la quantité d'ADN matriciel n'est pas, en théorie, un facteur limitant (Wang *et al.*, 1989). On peut donc amplifier des séquences nucléotidiques à partir de quantités infinitésimales d'extrait d'ADN.

Ainsi, il existe deux principales approches de la PCR :

- une approche ciblée sur un microorganisme, utilisant des amorces spécifiques ("on sait ce que l'on cherche") ;
- une approche large spectre, en ciblant un gène commun à toutes les bactéries, le gène ARNr 16S ("on ne sait pas ce que l'on cherche"), puis séquençage et comparaison aux banques de données pour identifier la bactérie en cause. Cette méthode a été utilisée dans cette étude.

Ce gène code la sous-unité 16S de l'ADN ribosomal et est essentiellement utilisé en raison de sa structure, très conservée dans toutes les bactéries. En effet, il est constitué d'une succession de domaines conservés qui sont des sites de complémentarité pour les amorces universelles utilisées pour le séquençage de ce gène, et d'autres portions de séquences propres à un groupe de bactéries, nommées séquences signatures (espèce, genre, famille). Le choix de l'ADNr 16S plutôt que 23S ou 5S est d'ordre technique (taille du gène, nombre d'informations) et, surtout, les banques de données de séquences du gène ADNr 16S sont aujourd'hui très développées. Enfin, l'identification est fiable : les résultats obtenus par séquençage du gène ADNr 16S sont similaires à ceux obtenus avec le génome entier (Chakravorty *et al.*, 2007).

b. Mode opératoire

- *La préparation des membranes FTA[®]* où les colonies ont été déposées est nécessaire avant d'entreprendre la PCR. Pour ceci, des disques de 2 mm de diamètre sont découpés à partir des membranes à l'aide d'un emporte-pièce puis placés dans des tubes eppendorf stériles. Les disques sont ensuite lavés 4 fois avec 200 µl d'un réactif de purification (FTA[®] purification reagent, GE Healthcare, Royaume-Uni) puis 4 fois avec 200 µl de tampon TE (10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, pH 8.0). A chaque lavage, les disques sont incubés 5 min dans la solution de lavage. Les disques sont ensuite séchés à température ambiante pendant 1 h avant de procéder à la PCR.
- *La réaction de PCR* est réalisée dans un mélange réactionnel qui comprend l'ADN sur le disque prélevé sur la membrane FTA[®], 0,3 µl de Taq polymérase à 5 U/µl (Biolabs, M0273S), 0,4 µl de chaque amorce à 50 µM et 1µl de désoxyribonucléoside triphosphate (dNTP) à 10 mM dnTP (Euromadex, EUA01601), 5 µl de tampon Taq 10 X (Biolabs, B9014S) et 41,9 µl d'eau distillée stérile (Eurobio, GAUEAU00F-01). Les amorces utilisées pour l'amplification du gène ADNr 16S entiers (15 kb) sont :

(fD1): AGAGTTTGATCCTGGCTCAG. Amorce universelle (Weisburg *et al.*, 1991)

(rD1): AAGGAGGTGATCCAGCC. Amorce universelle (Weisburg *et al.*, 1991)

Les tubes contenant le mélange réactionnel sont soumis à des cycles de température dans un thermocycleur (appareil qui comporte une enceinte où l'on dépose les tubes échantillons et dans laquelle la température peut varier, très rapidement et précisément, de 0 à 100°C par effet Peltier) (Chromo4 Real-Time PCR Detection System, Bio-Rad).

L'appareil permet la programmation de la durée et de la succession des cycles de paliers de température. Chaque cycle de PCR comprend trois périodes :

- Une dénaturation de l'ADN par chauffage pour séparer les deux brins qui le composent
- Une hybridation des amorces (aux extrémités de la séquence recherchée)
- Une élongation grâce à l'action d'une ADN polymérase

Ce cycle est répété un grand nombre de fois pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence d'ADN cible.

- Dénaturation initiale	94°C : 5 min	
- Dénaturation	94°C : 1 min	} 35 cycles.
- Hybridation	56°C : 1 min 15	
- Elongation	72°C : 1 min 15	
- Elongation finale	72 °C : 10 min	
	10°C : ∞	

III.2.3. Vérification de la PCR par électrophorèse

La réussite de la PCR est vérifiée par migration sur gel d'agarose à 1 %. Le but est de séparer les fragments d'ADN selon leur taille. Pendant l'électrophorèse, le gel est immergé dans une chambre contenant une solution tampon TAE (Tris Acétate EDTA). L'ADN à analyser migre à travers les pores du gel par le courant électrique se déplaçant de l'électrode négative vers l'électrode positive. Les fragments d'ADN plus petits migrent plus vite. Pour pouvoir estimer la taille des fragments, un "marqueur de taille" est ajouté. Un colorant d'acide nucléique (SYBR Safe, Invitrogen, Mississauga, ON), un agent s'intercalant dans les bases de l'ADN et fluorescent sous UV, est utilisé pour visualiser les fragments séparés.

III.2.4. Séquençage

Après la vérification de la PCR par électrophorèse, la concentration d'ADN dans chaque tube PCR a été mesurée par fluorimétrie (fluorimètre Qubit INVITROGEN) puis ajustée à 10 ng/μl avec de l'eau distillée. Les échantillons sont ensuite envoyés à séquencer au laboratoire EUROFINs Genomics (Ebersberg, Allemagne). La méthode utilisée par ce laboratoire pour le séquençage est adaptée de la méthode de séquençage de Sanger (Sanger *et al.*, 1977).

a. Principe

La méthode de Sanger repose sur l'allongement par l'ADN polymérase d'un brin d'ADN à partir d'une amorce, en utilisant le brin d'ADN matriciel. Cet allongement est réalisé en présence des quatre désoxynucléotides triphosphate (dATP, dTTP, dGTP, dCTP), monomères utilisés par la polymérase, et de leur analogue didésoxynucléotide (ddNTP) (Figure 23) respectif qui joue le rôle de terminateur de chaîne qui empêche la synthèse de se poursuivre au-delà.

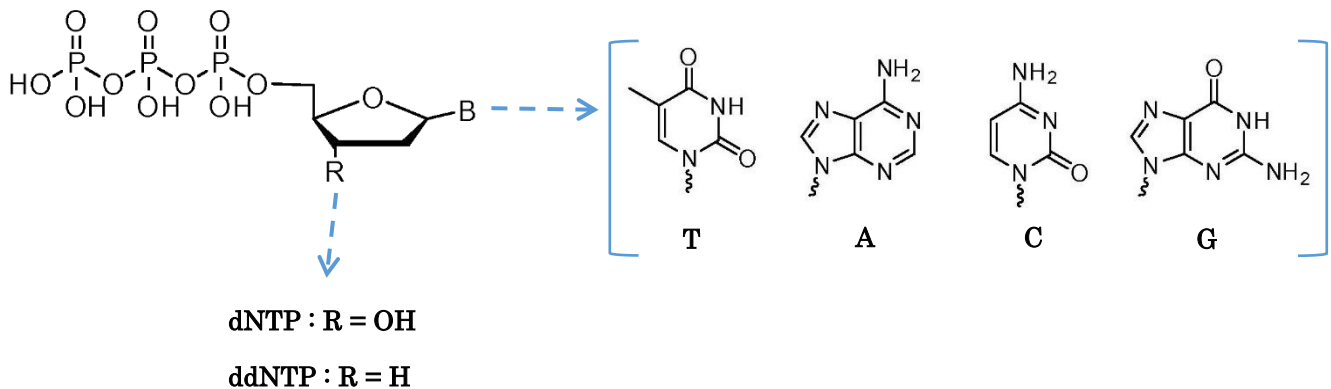


Figure 23 : Structure du dNTP et du ddNTP (Gade *et al.*, 2016)

b. Les étapes du séquençage

Le séquençage de Sanger est composé de différentes étapes (Brodeur & Toussaint, 2007):

- **L'amorçage** : comme pour la PCR, le séquençage débute par la dénaturation par la chaleur (séparer les deux brins) d'un échantillon d'ADN en solution. Une amorce d'environ 18 bases est ensuite ajoutée au brin dénaturé. L'amorce ne fonctionne que dans un sens (dit "montant") en s'accrochant au bout des brins d'ADN à répliquer et qui servira de point de départ pour la copie du reste du brin.
- **La polymérisation ou élongation** : elle permet le clonage partiel du brin d'ADN auquel l'amorce a été ajoutée grâce à l'ADN polymérase. Cet enzyme permet l'élongation d'un nouveau brin complémentaire du brin matrice dans le sens 5' → 3' en incorporant les nucléotides (dNTP) libres présents dans le milieu réactionnel par la formation d'un pont phosphodiester entre le 3'OH de la chaîne et le 5' phosphate du dNTP suivant.
- **La fin de polymérisation** : elle consiste à arrêter la réaction de polymérisation à chaque position de nucléotide dans le brin. L'ADN polymérase incorpore aléatoirement des didésoxynucléotides interrupteurs de chaîne (ddNTP) eux aussi présents dans le milieu réactionnel. Ces ddNTP diffèrent des dNTP par leur extrémité 3'. L'extrémité 3'OH des dNTP est remplacée par une extrémité 3'H (Figure 12). Cette modification empêche la formation de la liaison phosphodiester entre le ddNTP incorporé dans la chaîne et le nucléotide suivant. L'allongement de la chaîne est alors interrompu. Les ddNTP sont marqués par un fluorochrome pour qu'ils puissent être détectés plus loin dans le processus. Chaque fluorochrome diffère par un spectre d'émission spécifique. Une analyse spectrale va différencier les différents fluorochromes, associer la base correspondante et donc définir la séquence nucléotidique du brin d'ADN initial.

- Tri sur gel :** Les réactions de synthèse conduisent à la formation de chaînes d'ADN de toutes les tailles selon l'arrêt de la synthèse par le ddNTP. Les chaînes commencent au même endroit sur l'ADN matrice selon l'amorce utilisée et toutes celles qui possèdent la même longueur se terminent donc par le même ddNTP marqué par un fluorophore. Les chaînes d'ADN obtenues sont alors séparées par électrophorèse sur un gel d'acrylamide en fonction de leur taille. Plus les chaînes sont courtes, plus elles migrent loin et tous les fragments d'une même taille migrent à la même distance. Les molécules fluorescentes de ddNTP ne sont pas visibles à l'œil nu. Elles sont révélées à l'aide d'un laser qui va les exciter et les faire émettre de la lumière dans une couleur différente (A vert, T rouge, G jaune et C bleu). Il suffit alors de lire la succession des couleurs pour connaître l'ordre des nucléotides, c'est-à-dire la séquence de l'ADN, étape assurée automatiquement par les détecteurs du séquenceur.

Le séquençage a donc été réalisé en utilisant les amorces sp1, sp2, sp3 et sp4 (Figure 24). La figure 25 présente les différentes étapes du séquençage.

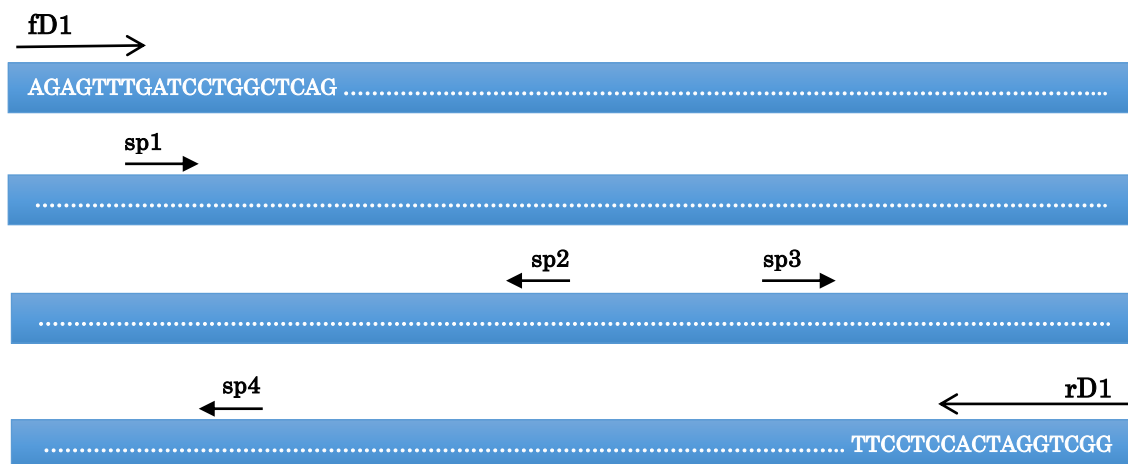


Figure 24 : Structure du brin d'ADNr 16S et position des amorces utilisées pour l'amplification du gène entier (cf II.2.2.b) pour le séquençage

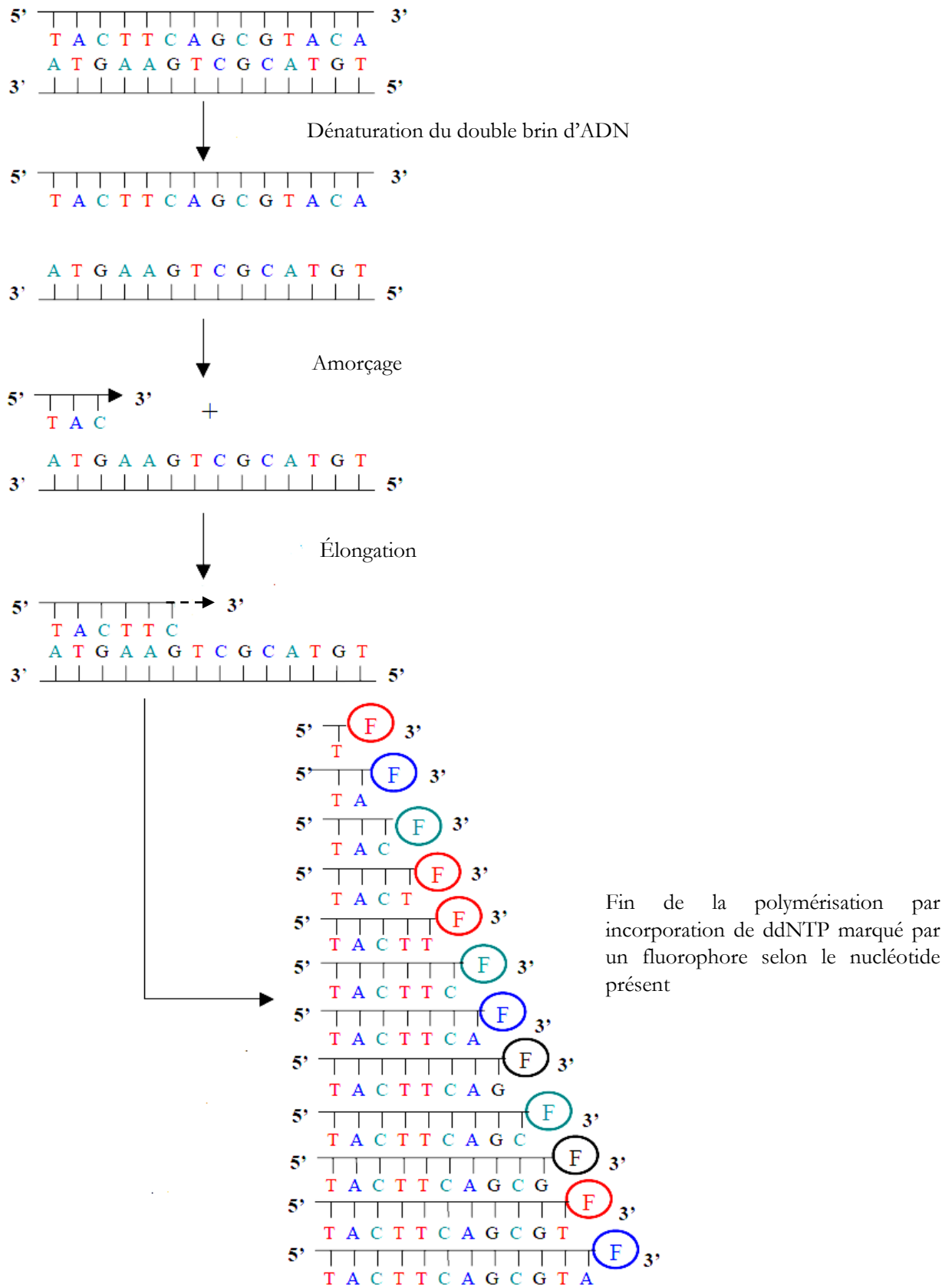


Figure 25 : Schéma représentatif d'un cycle de séquençage

c. Identification des séquences

Les séquences obtenues, au format fastq, sont nettoyées avec le logiciel libre BioEdit Sequence Alignment Editor ; puis les séquences propres sont alignées en contig (format fasta) avec le même logiciel. Le contig est ensuite comparé avec les séquences répertoriées dans la base de données. NCBI (National Center for Biotechnology Identification) afin d'identifier le genre et l'espèce. Une homologie de 99 % avec la banque de données est choisie comme seuil.

IV. Analyses des propriétés physiques

IV.1. Stockage et préparation des échantillons

Après la fabrication (cf. Partie II – II.2), les cubes de jambons emballés sous vide, traités ou non par hautes pressions et biopréservés ou non, sont stockés à 4 °C. Des échantillons sont ensuite prélevés à différents temps J+1, J+7, J+14 et J+21 de stockage. Pour chaque analyse, les cubes de jambon sont remis à température ambiante pendant 5 minutes puis 50 g sont prélevés puis broyés (Blender Instrument, Waring) pendant 10 à 15 secondes afin d'avoir un prélèvement homogène et représentatif.

IV.2. Mesure du pH

Les mesures de pH ont été effectuées à l'aide d'un pH-mètre (InLab® Sensors, Mettler Toledo GmbH, Suisse). Pour cela, 30 ml d'eau distillée sont ajoutés à 10 g d'échantillon broyé. Le mélange est homogénéisé à l'aide d'un ultradisperseur (Ultra Turrax IKA® T25, Staufen Im Breisgau, Allemagne) pendant 30 secondes à 11000 rpm. Le pH est mesuré sur l'homogénat grâce à une sonde liquide préalablement calibrée avant utilisation.

IV.3. Mesure de la teneur en eau

La mesure de la teneur en eau a été effectuée par dessiccation. Cinq grammes d'échantillon broyé sont pesés avec précision dans une coupelle aluminium et mis à l'étuve à 105 °C pendant 24 h. La capsule est ensuite stabilisée dans un dessiccateur et pesée précisément. La teneur en eau est calculée comme suit :

$$Teneur\ en\ eau\ (\%) = \left(1 - \frac{masse\ jambon\ après\ dessiccation}{masse\ initiale\ jambon}\right) \times 100$$

IV.4. Mesure de la capacité de rétention d'eau (CRE)

L'évaluation de la CRE a été effectuée par centrifugation selon une adaptation de la méthode de Duranton *et al.* (2012a). Dix grammes d'échantillon broyé sont placés dans un tube à centrifuger qui contient deux papiers filtres de porosité différente (Whatman n° 3 et n° 40). Une centrifugation (centrifugeuse Aventi JE, Beckman Coulter, Fullerton, USA) est ensuite effectuée à 5000 g pendant 20 min à 20 °C. La CRE est calculée par rapport à la teneur en eau selon l'équation suivante :

$$CRE\ (\%) = Teneur\ en\ eau - \left(\frac{Masse\ initiale - Masse\ après\ centrifugation}{Masse\ initiale} \times 100\right)$$

IV.5. Mesure de l'exsudation

L'exsudation traduit la perte en jus subie par le jambon au cours du stockage. Avant d'être emballés sous vide et traités ou non par hautes pressions, les cubes de jambons sont pesés avec précision (P_i). A chaque jour de stockage, les échantillons sont retirés de leur emballage, essuyés à l'aide d'un papier absorbant puis pesés (P_f). L'exsudation est alors calculée comme suit :

$$\text{Exsudation (\%)} = \frac{P_i - P_f}{P_f} \times 100$$

IV.6. Mesure de la couleur

L'évaluation de la couleur a été effectuée avec un spectrocolorimètre CM-3500d (MINOLTA, Japon) qui utilise le système colorimétrique CIE $L^*a^*b^*$ (Figure 26). Il s'agit d'un système qui se fonde sur une représentation sur 3 axes orthogonaux L^* (clarté), a^* (indice de rouge) et b^* (indice de jaune).

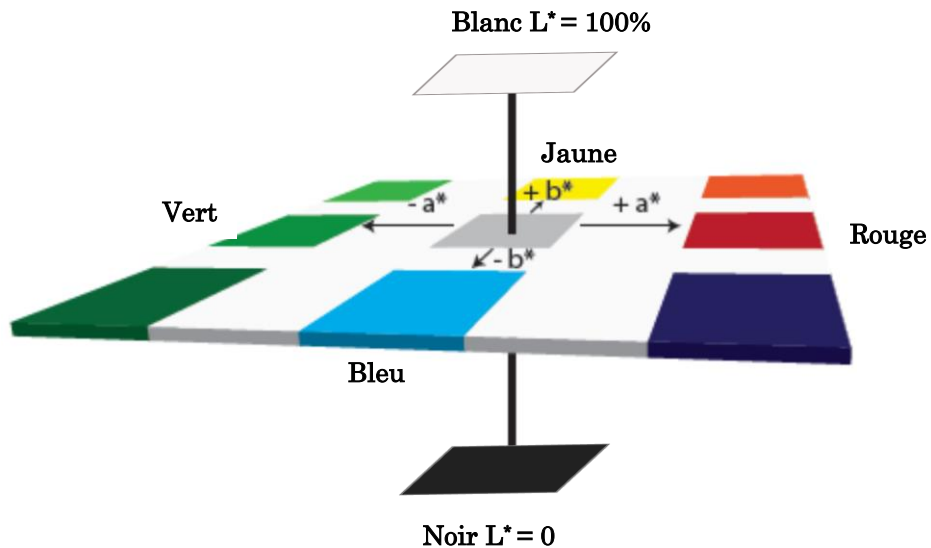


Figure 26 : Espace colorimétrique CIELAB ($L^* a^* b^*$)

D'autres paramètres peuvent être calculés :

- La saturation C^* qui correspond à la distance du point représentatif de la couleur au centre du cercle

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

- L'écart de couleur ΔE qui correspond à l'écart colorimétrique entre un standard et l'échantillon à analyser

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

Cet espace est le plus proche de la sensibilité de l'œil humain. Sa totalité contient environ 4.2 millions de couleurs et la distribution des couleurs y est uniforme. Cette uniformité signifie que de faibles écarts théoriques entre couleurs sont ressentis comme étant également faibles visuellement.

Les mesures sont effectuées sur toutes les faces du cube de jambon (une mesure par face) et 15 cubes sont analysés pour chaque condition et chaque jour de stockage.

IV.7. Mesure de la texture

La texture des cubes de jambon est caractérisée par l'analyse du profil de texture (TPA) selon la méthode décrite par Bourne (1978). Les mesures sont effectuées à l'aide d'un texturomètre TA-XT Plus (Texture Technologies Corp. and Stable Micro Systems, Ltd., Hamilton, USA) équipé d'un capteur de 50 kg et d'une platine cylindrique de 75 mm de diamètre. Les cubes de jambon subissent deux compressions uniaxiales de 30 % par rapport à leur hauteur initiale. La vitesse de compression est de 1 mm/s avec un temps d'attente de 10 s entre chaque compression et la précharge est de 0,10 N. Le type de courbe obtenu est présenté en Figure 27.

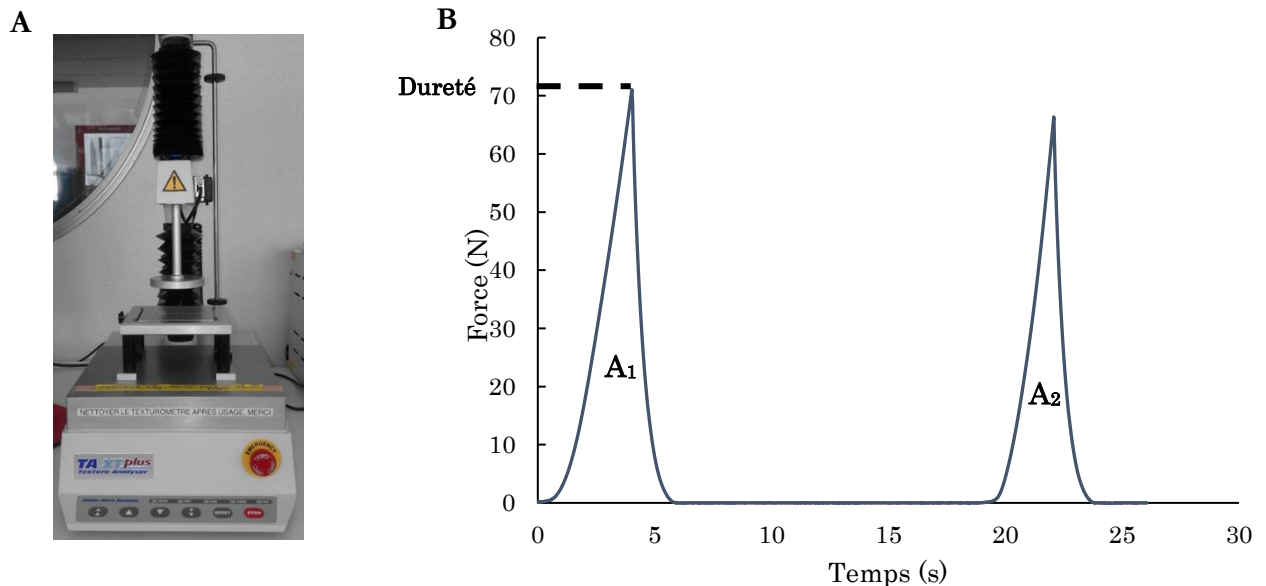


Figure 27 : Mesure de la texture. (A) Texturomètre TA-XT Plus, (B) Courbe d'un profil de texture du jambon cuit exprimant la force appliquée en fonction du temps

Les mesures ont permis de définir deux paramètres pertinents :

- La dureté (en N) qui est définie comme la force nécessaire pour comprimer l'aliment entre les molaires. Elle correspond à la force maximale pour atteindre la déformation imposée lors de la première compression.
- La cohésion qui correspond à l'aire du premier cycle (A_1) sur celui du second cycle (A_2). Il s'agit de la manière dont le produit résiste à la seconde déformation, relativement à la façon dont il s'est comporté lors de la première.

V. Analyse des propriétés chimiques

V.1. Dosage du fer libre

Le fer est présent sous différentes formes dans la viande et les produits carnés. Le fer libre, c'est-à-dire le fer non lié à l'hème, est connu pour contribuer à l'oxydation des lipides. Le dosage du fer libre est réalisé selon la méthode de Villamonte *et al.* (2017).

Un gramme d'échantillon broyé est homogénéisé avec 20 ml de tampon citrate (10 mM, pH 7, 140 mM de NaCl) à l'aide d'un ultradisperseur (Ultra Turrax T-25 IKA® Staufen Im Breisgau, Allemagne) pendant 3 x 10 s à 11000 rpm. 4 ml du même tampon sont ensuite placés dans des boudins de dialyse d'un diamètre de 15 mm (seuil de coupure 12 kDa). Les boudins de dialyse sont ensuite placés dans l'homogénat. La dialyse est effectuée pendant 3h30 à température ambiante sous agitation. En parallèle, un blanc est réalisé avec un boudin de dialyse de 4 ml de tampon citrate laissé à l'équilibre dans 20 ml du même tampon afin de contrôler le relargage éventuel du fer des boudins de dialyse. A la fin de la dialyse, les dialysats sont récupérés individuellement par le biais d'une seringue afin d'en doser la concentration en fer libre.

1 ml de dialysat est mélangé avec 100 µm d'acide ascorbique à 10 mM et 120 µl de ferrozine à 10 mM. En parallèle, une gamme d'étalonnage, traitée comme le dialysat, est réalisée avec du sulfate de fer avec des concentrations comprises entre 5 et 20 µM. Après agitation pendant 20 min à 1000 rpm (Digital Disruptor Genie, Scientific Industries, Bohême, USA), les absorbances des échantillons et de la gamme sont mesurées au spectrophotomètre (Lambda 25, Perkin Elmer) à 562 nm contre un blanc réactif contenant 1 ml de tampon, 100 µl d'acide ascorbique et 120 µl de ferrozine. La concentration en fer libre (µg/g de jambon) est déterminée grâce à la courbe d'étalonnage (figure 28) et telle que :

$$Fer\ libre = \frac{(A_{\text{échantillon à } 562\text{ nm}} \times M_{Fe} \times V_{\text{tampon de mise à l'équilibre}}) - b}{a \times m_{\text{viande pesée}}}$$

a : coefficient directeur de la droite d'étalonnage

b : ordonnée à l'origine de la droite d'étalonnage

M_{Fe} : 55,845 g/mol

$V_{\text{tampon de mise à l'équilibre}}$: 24 ml (20 ml d'extrait de viande + 4 ml de boudin de dialyse)

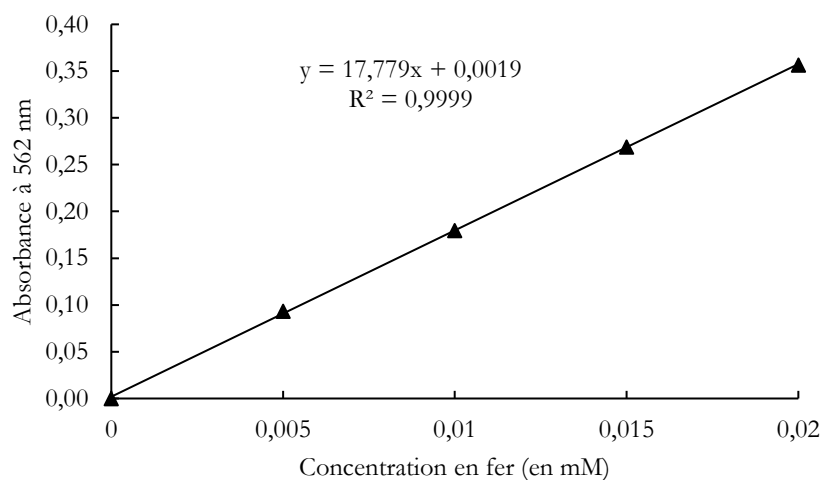


Figure 28 : Courbe de calibration de la concentration en fer par une solution de sulfate de fer à 562 nm

V.2. Analyses de l'oxydation des lipides

Les acides gras ayant plus de deux doubles liaisons donnent, entre autres, parmi les produits d'oxydation secondaire, le malondialdéhyde (MDA) qui est le marqueur de l'oxydation des lipides par excellence. L'acide thiobarbiturique (TBA) réagit avec le MDA pour former un complexe MDA- (TBA)₂ rose (Figure 29). La quantité de complexe produite, et par conséquent l'intensité de la couleur obtenue, est proportionnelle à la teneur en MDA et permet de quantifier l'état d'oxydation des corps gras analysés. La concentration de MDA peut être évaluée par quantification spectrophotométrique des TBARS (substances réagissant spécifiquement avec le TBA) ou par mesure après séparation du complexe MDA- (TBA)₂ par u-HPLC.

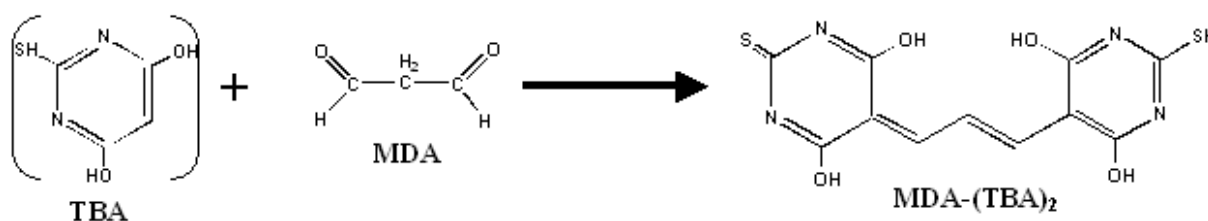


Figure 29 : Formation du complexe MDA-(TBA)₂

V.2.1. Dosage des TBARS

Les TBARS sont quantifiés selon la méthode de Villamonte *et al.* (2017) avec de légères modifications. Quatre grammes d'échantillon sont homogénéisés avec un ultradisperseur (Ultra Turrax T-25 IKA® Staufen Im Breisgau, Allemagne) à 11000 rpm pendant 2 x 35 s dans une solution d'extraction (40 µl de BHT 4,5 mM préparé dans de l'éthanol, 80 µl d'EDTA 0,1 M et 10 ml de TCA 0,3 M) et dans un bain de glace. L'homogénat est ensuite agité au vortex pendant 1 min, dissout à l'ultrason pendant 5 min et centrifugé à 4 000 g pendant 10 min. Le surnageant est alors mélangé avec 3 ml d'un réactif TBA à 55,5 mM préparé dans

une solution de NaOH 0,05 M, chauffé à 70 °C pendant 20 min puis refroidi sous un courant d'eau froide. L'absorbance est alors enregistrée entre 400 à 600 nm contre un blanc constitué des réactifs.

Les concentrations en TBARS sont calculées à partir d'une courbe d'étalonnage (Figure 30) en utilisant du 1,1,3,3-tetra-éthoxypropane (TEP) (Sigma Aldrich, T9889) qui est un précurseur du MDA. La solution mère de MDA a été préparée par hydrolyse acide du TEP à 1 mg/ml dans du HCl 0,1 N au bain-marie bouillant pendant 5 min. La concentration en MDA de cette solution a été déterminée par mesure spectrophotométrique de l'absorbance à 245 nm et avec un coefficient d'extinction de 13700 M⁻¹.cm⁻¹. Cette solution mère de MDA a été utilisée pour réaliser la courbe étalon par dilutions successives à des concentrations comprises entre 0 et 7,5 µM. Les solutions filles obtenues ont été traitées de la même façon que les échantillons.

L'absorbance à 532 nm de la gamme étalon et des échantillons est corrigée en soustrayant la valeur d'absorbance à 575 nm pour limiter la surestimation liée à la turbidité du milieu réactionnel (correction de la ligne de base) (Figure 31).

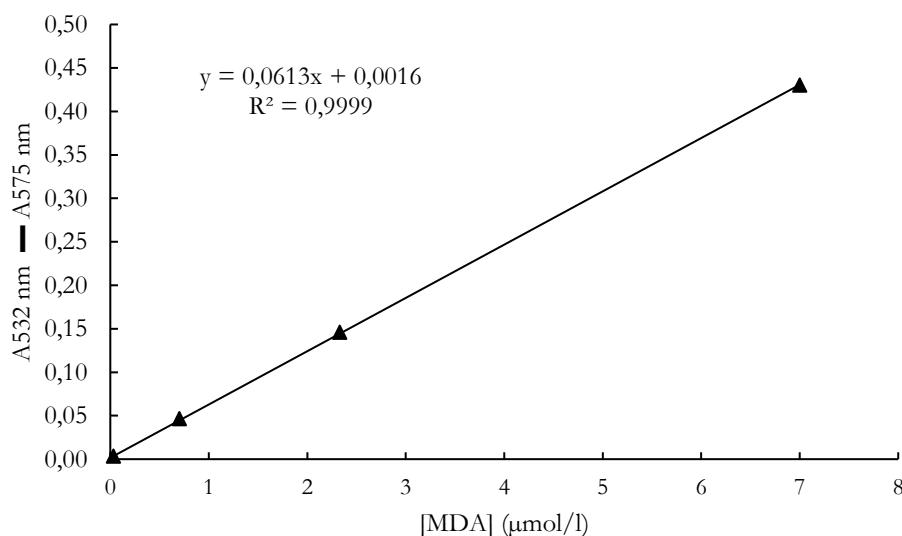


Figure 30 : Courbe d'étalonnage du TEP : absorbance corrigée ($A_{532\text{ nm}} - A_{575\text{ nm}}$) en fonction de la concentration en MDA

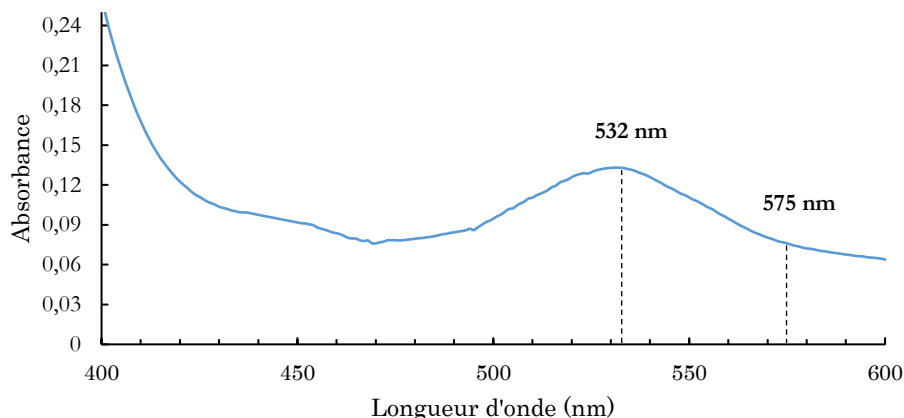


Figure 31 : Spectre d'un extrait protéique de jambon cuit après réaction avec du TBA

Les résultats ont été exprimés en nmol équivalent de malondialdéhyde (MDA) par g de jambon cuit et déterminés selon l'équation suivante :

$$\text{Teneur en TBARS} = \frac{[(A_{532nm} - A_{575nm}) - b] \times V_T \times 10^3}{a \times m_{\text{jambon cuit}}}$$

a : Coefficient directeur de la droite d'étalonnage du TEP

b : Ordonnée à l'origine de la droite d'étalonnage du TEP

V_T : Volume solution d'extraction ($V_{BHT} + V_{EDTA} + V_{TCA}$) en l

$m_{\text{jambon cuit}}$: Prise d'essai en g

V.2.2. Dosage du MDA par HPLC

Le MDA a également été quantifié par chromatographie liquide haute performance (HPLC) selon le protocole de Kenmogne-Domguia, *et al.* (2012). Les échantillons sont préparés de la même façon que pour la quantification des TBARS. Ensuite, 20 μ l de mélange réactionnel sont injectés dans un système u-HPLC (chaîne UHPLC Dionex RS-LC Ultimate 3000) associé à une colonne C18 (Symmetry, 150 x 4,6 mm, 5 μ m) et à un détecteur à barette de diode (DAD) à une longueur d'onde de 532 nm. Le complexe MDA- (TBA)₂ est élué à un débit de 1 ml/min avec une phase mobile composée de tampon NaH₂PO₄/Na₂HPO₄ (50 mM, pH 6,8) / méthanol / acétonitrile (72 / 17 / 11; v/v/v). Le MDA a été quantifié en utilisant une courbe d'étalonnage externe de TEP comme lors du dosage des TBARS.

Le pic correspondant au complexe MDA-(TBA)₂ est sélectivement détecté, et son aire est obtenue par intégration grâce au logiciel Chroméléon.

La concentration en MDA de l'échantillon est exprimée en nmol/g et calculée ainsi :

$$Teneur\ en\ MDA = \frac{(S_{MDA-(TBA)_2} - b) \times V_T \times 10^3}{a \times m_{jambon\ cuit}}$$

$S_{MDA-(TBA)_2}$: Surface du pic du complexe MDA-(TBA)₂ en mV*min

a : Pente de la droite de calibration du TEP

b : Ordonnée à l'origine de la droite de calibration du TEP

V_T : Volume total du contenu du tube = $V_{\text{extrait}} + V_{\text{BHT/EtOH}} + V_{\text{EDTA}} + V_{\text{TCA}}$ en l

$m_{\text{jambon cuit}}$: Prise d'essai en g

V.2.3. Péroxydation stimulée des lipides

Afin d'évaluer la sensibilité des acides gras (en particulier ceux polyinsaturés) de l'échantillon à la lumière et l'air, une induction de la lipoperoxydation est effectuée. De même que précédemment, les TBARS sont utilisés pour déterminer le niveau d'oxydation. La méthode utilisée est celle de Guillevic *et al.* (2009).

1 g de jambon broyé est homogénérisé dans 9 ml de KCl 1,15 %. 100 µl d'homogénat sont ensuite ajoutés à 500 µl de tampon malate de tris 80 mM (pH 7,4), 200 µl de sulfate de fer 5 mM (comme catalyseur de la réaction) et 200 µl d'acide ascorbique 2 mM. Le mélange est ensuite incubé à 37 °C pendant 300 min. A des temps donnés, (0, 60, 120, 200 et 300 minutes) la réaction est arrêtée en ajoutant au milieu, un concentré de TBA-TCA-HCL puis agité au vortex. La solution est ensuite placée dans un bain bouillant pendant 15 min puis immédiatement refroidie dans un bain de glace pendant 15 min. Une centrifugation de 4000 g pendant 10 min est ensuite effectuée. L'absorbance de l'échantillon est déterminée à 535 nm contre un blanc contenant tous les réactifs moins l'homogénat. Les TBARS sont exprimés en nmol de malonaldéhyde/g de jambon en utilisant le coefficient d'extinction du MDA qui est de $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

$$[TBARS] = \frac{A_{535\text{ nm}}}{1,56 \times 10^5 \times m \times V_{\text{réaction}} \times d \times 10^9}$$

$A_{535\text{ nm}}$: Absorbance mesurée à 535 nm

$1,56 \times 10^5$: coefficient d'extinction du MDA (en $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)

m : prise d'essai du jambon (g)

$V_{\text{réaction}}$: volume de réaction (3 ml)

d : facteur de dilution de l'homogénat (10)

10^9 : facteur de conversion de mol à nmol

V.3. Analyse des protéines

V.3.1. Extraction des protéines

L'étude des protéines de jambon cuit traité ou non par hautes pressions et biopréservé ou non nécessite l'extraction de celles-ci. Cependant, aucune méthodologie non dénaturante ne permet d'extraire la totalité des protéines. Ainsi, les résultats seront exprimés sur la base des protéines extraites.

Un gramme de jambon cuit broyé est mélangé à 9 ml de tampon phosphate de potassium à 0.04 M pH 6 et contenant 0.6 M de chlorure de potassium. Le mélange est ensuite homogénéisé à l'aide d'un ultradisperseur (Ultra Turrax T-25 IKA® Staufen Im Breisgau, Allemagne) pendant 2 x 30 s à 11000 rpm. L'homogénat protéique est ensuite filtré sur gaze (8 épaisseurs) afin d'éliminer le tissu conjonctif et les lipides résiduels. Cet extrait protéique sera utilisé pour les différentes analyses de caractérisation des protéines du jambon cuit.

V.3.2. Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été réalisé par la méthode de Biuret (Gornall *et al.*, 1949) qui est basée sur la réaction des liaisons peptidiques des protéines avec les ions Cu^{2+} pour former des complexes de couleur bleue dont l'intensité est proportionnelle à la concentration protéique.

200 μl d'extrait protéique, dont la concentration doit être comprise entre 1 et 10 g/l de tampon, sont mélangés à 200 μl de cholate de sodium à 4 % (m/v), 2.3 ml d'hydroxyde de sodium 10 % (m/v) et 300 μl de sulfate de cuivre 1 % (m/v). Un repos de 15 min est effectué puis l'absorbance est mesurée à 540 nm par spectrophotométrie (Lambda 25, Perkin Elmer). La gamme d'étalonnage est réalisée sur des solutions de SAB (sérum albumine bovine) (Sigma-Aldrich, Missouri, Etats-Unis) à des concentrations comprises entre 1 et 10 g/l.

V.3.3. Solubilité des protéines

La solubilité des protéines est généralement définie comme la quantité de protéines restant en solution après l'application d'une force centrifuge spécifique pendant un temps précis (Hultin, Feng & Stanley, 1995). L'extrait protéique est centrifugé à 5000 g pendant 15 min à 20 °C. Le surnageant est récupéré afin de mesurer la concentration en protéines solubles par la méthode de Biuret.

V.3.4. Dénaturation des protéines

La calorimétrie à balayage différentiel (ou Differential Scanning Calorimetry DSC) est une technique thermoanalytique permettant de suivre les modifications des propriétés physiques ou chimiques des composés en fonction de la température tels que les changements d'état, de structure ou de phase. Les macromolécules et les ensembles macromoléculaires (> 5000 Daltons), tels que les protéines et les lipides, peuvent former des structures tridimensionnelles bien définies subissant des changements conformationnels sous l'effet de la chaleur. Ces réarrangements structurels se traduisent par une absorption de chaleur due à

la redistribution des liaisons non covalentes (Ma & Harwalkar, 1991). La calorimétrie différentielle à balayage mesure cette absorption de chaleur. Ici, la DSC va permettre de caractériser les protéines du jambon cuit.

a. Principe de la mesure

Le principe consiste à mesurer la quantité d'énergie requise pour chauffer un échantillon en fonction de la température, par rapport à une référence. On parle également de mesure d'enthalpie (ou flux de chaleur) en fonction de la température. L'appareil ajuste donc la quantité d'énergie transmise à l'échantillon afin que sa température demeure semblable à celle de la référence. Ainsi, tout changement induit par la température entraîne une modification du flux de chaleur différentiel qui est ensuite enregistré sous forme de pic sur un thermogramme.

Le thermogramme se présente sous la forme d'un graphique montrant le flux de chaleur en fonction de la température. Deux types de changements de phase peuvent être observés (Figure 32), soit des processus exothermiques (où l'échantillon libère de la chaleur) soit les processus endothermiques (où l'échantillon absorbe de la chaleur).

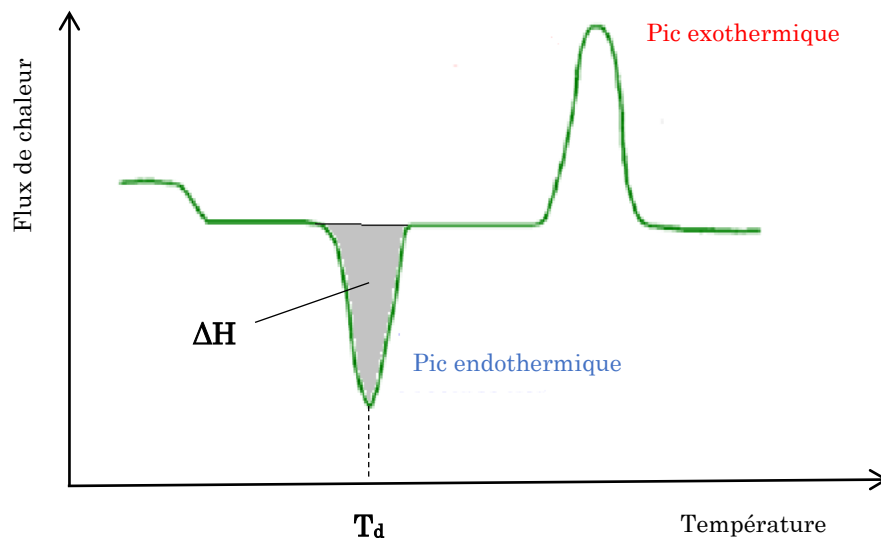


Figure 32 : Thermogramme montrant les changements de phase possible obtenus par calorimétrie

Deux paramètres peuvent être récupérés à partir du thermogramme :

- La température au sommet du pic qui correspond à la température de dénaturation (T_d).
- L'enthalpie de dénaturation ΔH qui correspond à la surface sous le pic de DSC normalisé par la quantité de matière sèche protéique.

b. Mode opératoire

Les mesures sont réalisées à l'aide d'une μ DSC III (Setaram Instrumentation, Caluire, France). La méthode utilisée est inspirée de celle de Villamonte *et al.* (2013) avec quelques modifications. 700 à 800 mg d'échantillon broyé sont placés dans une cellule Hastelloy® et la cellule de référence est remplie d'eau avec une masse égale à l'échantillon. La cinétique de chauffage est de 10 °C à 110 °C à une vitesse de 0,5 °C/min. Le traitement des données est effectué à l'aide du logiciel Calisto processing (Setaram Instrumentation, Caluire, France). Une intégration entre 35 et 90 °C a permis d'obtenir l'enthalpie de dénaturation de chaque pic ainsi que l'enthalpie totale ΔH (J/ g de matière sèche). Les températures de dénaturation sont relevées au sommet de chaque pic.

V.3.5. Analyse de l'oxydation des protéines

Plusieurs méthodes permettent d'évaluer l'état oxydatif des protéines du jambon cuit. La plus couramment utilisée est la quantification des composés carbonylés par le DNPH (2,4-DiNitroPhenylHydrazine). Toutefois, afin d'être le plus représentatif de l'effet du procédé sur oxydation des protéines, une détermination des groupements thiols est également réalisée en parallèle.

a. Dosage des composés carbonylés

La méthode de Levine *et al.* (1994), avec quelques modifications, a été utilisée pour la quantification des composés carbonylés. Ces derniers réagissent de façon spécifique avec le DNPH et forment un précipité jaune dont le pic d'absorbance est situé à 370 nm.

100 μ l d'extrait protéique sont précipités avec 1 ml d'acide trichloroacétique (TCA) à 10 % (m/v) et centrifugés (10000 g, 5 min, 4 °C). Le culot est ensuite repris dans 0,8 ml de DNPH à 0,2 % (m/v) dans de l'acide chlorhydrique 2 M, et l'échantillon est mis sous agitation à 2000 rpm (Digital Disruptor Genie, Scientific Industries, Bohême, USA) à température ambiante et à l'abri de lumière pendant 1 heure. Les protéines sont ensuite précipitées par addition de 0,7 ml de TCA à 10 % puis centrifugées (10000 g, 10 min, 4 °C), après quoi le surnageant est éliminé. L'excès de DNPH est éliminé par trois lavages successifs avec 1 ml d'un mélange d'éthanol/acétate d'éthyle (1:1, v/v), agité au vortex et centrifugé à 10000 g pendant 5 min à 4 °C. Après le dernier lavage, l'excès de solvant est éliminé en laissant l'échantillon sous hotte pendant 1 h. Le culot séché est alors repris dans 1 ml d'hydrochlorure de guanidine 6 M dans du tampon phosphate 20 mM (pH 6,5) et le mélange est agité à 2000 rpm pendant 30 min à l'abri de la lumière. Après centrifugation (10000 g, 10 min, 4 °C), un spectre d'absorbance est mesuré entre 250 et 500 nm (spectrophotomètre Lambda 25, Perkin Elmer, Waltham, Etats-Unis) contre la solution de guanidine 0,6 M (Figure 33). L'absorbance mesurée à 280 nm est utilisée pour quantifier la concentration en protéines et la teneur en composés carbonylés est déterminée à 370 nm.

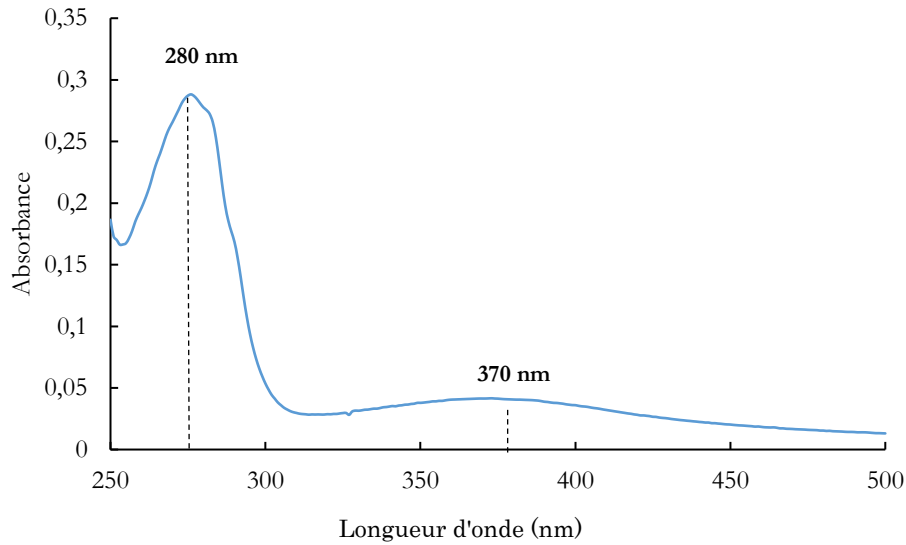


Figure 33 : Spectre d'un extrait protéique de jambon cuit après réaction au DNPH

La teneur en protéines dans l'extrait protéique est déterminée par la formule suivante :

$$[\text{Protéines extraites}] = \frac{A_{280 \text{ nm}} - (0,29 \times A_{370 \text{ nm}})}{A_{280 \text{ nm SAB } 1 \text{ g/l}}} \quad (\text{en g/l})$$

0,29 : facteur donnant l'absorbance résiduelle des protéines carbonylées à 280 nm

$A_{280 \text{ nm SAB } 1 \text{ g/l}} = 0,5353$ (absorbance à 280 nm du SAB à une concentration de 1 g/l)

La teneur en protéines carbonylées ($\mu\text{mol/l}$) est calculée en tenant compte de la dérive de la ligne de base (Figure 34).

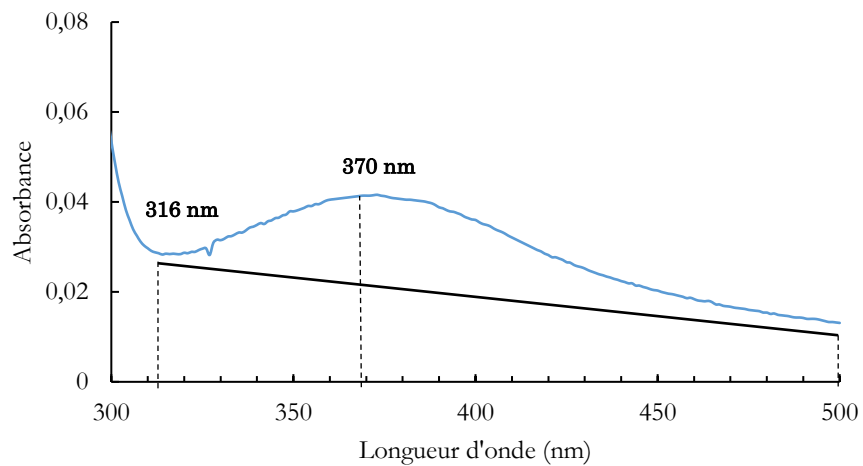


Figure 34 : Spectre de l'extrait protéique de jambon cuit entre 300 et 500 nm après réaction au DNPH

Les ajustements suivants ont été pris en compte pour les valeurs d'absorbance à 370 nm.

$$A_{370\text{ nm}} \text{ corrigée} = A_{370\text{ nm}} - \frac{(A_{316\text{ nm}} - A_{500\text{ nm}}) \times (370 - 500)}{316 - 500} + A_{500\text{ nm}}$$

$$[\text{Composés carbonylés}] \text{ (en } \mu\text{M)} = \frac{A_{370\text{ nm}} \text{ corrigée}}{1 \times \epsilon_{370\text{ nm}}}$$

l : trajet optique de la cuve = 1 cm

$\epsilon_{370\text{ nm}}$: coefficient d'extinction molaire des protéines hydrazines à 370 nm = 21 l/nmol/cm = 0,021 l/ μ mol/cm

La concentration en composés carbonylés par rapport aux protéines extraites (μ mol/g de protéines) est calculée comme suit :

$$[\text{Composés carbonylés}] \text{ (en } \mu\text{mol/g de protéines)} = \frac{[\text{Composés carbonylés}] \text{ (en } \mu\text{M)}}{[\text{Protéines extraites}]}$$

b. Dosage des thiols

La concentration en groupements thiol (groupement sulfhydryle SH) a été déterminée selon la méthode décrite par Guyon *et al.* (2018). La fonction thiol peut être mesurée par réaction avec l'acide 5,5' dithiobis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman) donnant l'acide 5-thio-trinitrobenzoïque (Figure 35) qui est un composé jaune dosable à 412 nm.

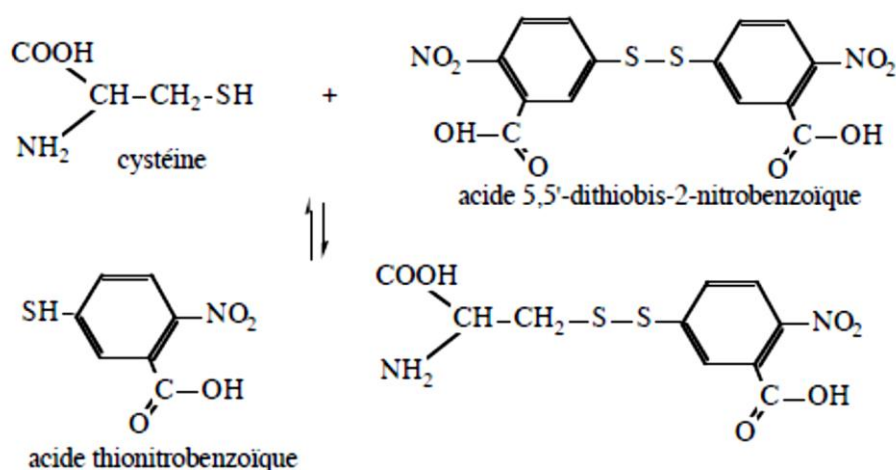


Figure 35 : Réaction du DTNB sur groupement sulfhydryle libre

Cent microlitres d'extrait protéique sont dissouts dans 1,4 ml d'une solution d'urée 6 M préparée dans une solution de tampon phosphate (40 mM, KCl 0,6 M, pH 6) pour quantifier les thiols accessibles, et 100 μ l du même extrait sont mélangés avec 1,4 ml du même tampon phosphate (40 mM, KCl 0,6 M, pH 6) pour

quantifier les thiols libres. Ensuite, 30 µl de réactif DTNB à 10 mM sont ajoutés aux deux solutions et sont ensuite agitées au vortex. Les mélanges sont protégés contre la lumière et laissés réagir pendant exactement 30 min. L'absorbance est alors mesurée par spectrophotométrie à 412 nm. La concentration en thiol est calculée en utilisant la loi de Beer Lambert et la concentration en protéine est déterminée en parallèle avec la méthode de Biuret. La concentration en thiols (en µmol/g de protéines) est calculée grâce à l'équation suivante :

$$\text{Concentration en SH} = \frac{A_{412 \text{ nm}} \times 10^6}{\epsilon_{412 \text{ nm}} \times l \times [\text{protéines}]}$$

$\epsilon_{412 \text{ nm}}$: coefficient d'extinction molaire à 412 nm du complexe coloré = 11400 l/µmol/cm

l : trajet optique de la cuve = 1 cm

[Protéines] : concentration en protéines en g/l

V.3.6. Évaluation de la digestibilité des protéines du jambon cuit

Afin d'évaluer l'effet du procédé sur la digestibilité des protéines du jambon cuit, une digestion enzymatique a été effectuée en simulant le compartiment gastrique de l'estomac et du duodénum. La digestibilité des protéines a été évaluée comme décrit par Gatellier & Santé-Lhoutellier (2009) avec des modifications mineures.

a. Mode opératoire

Trois grammes de jambon cuit broyé sont homogénéisés (2 x 30 s à 11000 rpm puis 2 x 30 s à 13500 rpm) avec un ultradisperseur (Ultra Turrax T-25 IKA® Staufen Im Breisgau, Allemagne) dans 30 ml de tampon glycine 33 mM, à pH 1,8 (Sigma Aldrich). Une solution de pepsine (P7012 – 2500 U/ mg de solide, Sigma Aldrich) à une concentration de 25 U/mg de protéine est préparée en parallèle dans le même tampon glycine 33 mM à pH 1,8. L'homogénat de jambon et la solution de pepsine sont ensuite chauffés jusqu'à avoir une température de 37 °C et lorsque cette température est atteinte, 2 ml de la solution de pepsine sont ajoutés à l'homogénat. Le mélange est incubé à 37 °C pendant 2 h. A différents temps de l'incubation (0, 5, 10, 20, 30, 40, 60, 90 et 120 min), 500 µl de digestat sont prélevés et ajoutés à 500 µl d'acide trichloroacétique (TCA) à 15 % préalablement préparés dans des eppendorfs afin de stopper l'action de la pepsine. Les eppendorfs sont ensuite immédiatement placés dans un bain de glace pendant au moins 30 min.

Après 2 heures de digestion pepsique, la réaction est stoppée en ajustant le pH à 8 avec du NaOH 1 M, et l'homogénat est immédiatement refroidi dans un bain de glace pendant 1 h. Une solution de trypsine (EC 3.4.21.4 – 16200 U/ mg de solide, Sigma Aldrich) à une concentration de 6,55 U/mg de protéine totale est préparée. L'homogénat qui a été refroidi dans un bain de glace ainsi que la solution de trypsine sont remis à une température de 37 °C et lorsque cette température est atteinte, 2 ml de la solution de trypsine est ajouté à l'homogénat. Le mélange est de nouveau incubé à 37 °C pendant 2 heures supplémentaires. A différents temps après l'addition de trypsine (0, 10, 20, 30, 60 et 120 min), la digestion est arrêtée par addition de 500

µl de TCA 15 % dans un bain de glace pendant au moins 30 min comme précédemment. Les différents digestats prélevés sont ensuite centrifugés à 4000 g pendant 15 min à 4 ° C et la teneur en peptides dans la fraction soluble est estimée par absorbance (A) à 280 nm.

b. Détermination des paramètres de la digestion *in vitro*

Une modélisation mathématique selon Gatellier & Santé-Lhoutellier (2009) est utilisée pour caractériser le processus digestif. Deux paramètres sont déterminés :

- L'absorbance maximale (A_{max}), qui est un bon indice du niveau de protéolyse et représente la valeur d'absorbance obtenue après un temps de digestion infini.
- Le temps de demi-vie de la réaction ($t_{1/2}$) correspondant au temps nécessaire pour produire la moitié de la quantité de peptide hydrolysé à A_{max} , qui mesure la vitesse de digestion.

Ces deux paramètres ont été obtenus en traçant l'inverse de l'absorbance ($1/A$) par rapport à l'inverse du temps d'incubation ($1/t$) et en déterminant l'équation de la courbe de tendance exponentielle (figure 36).

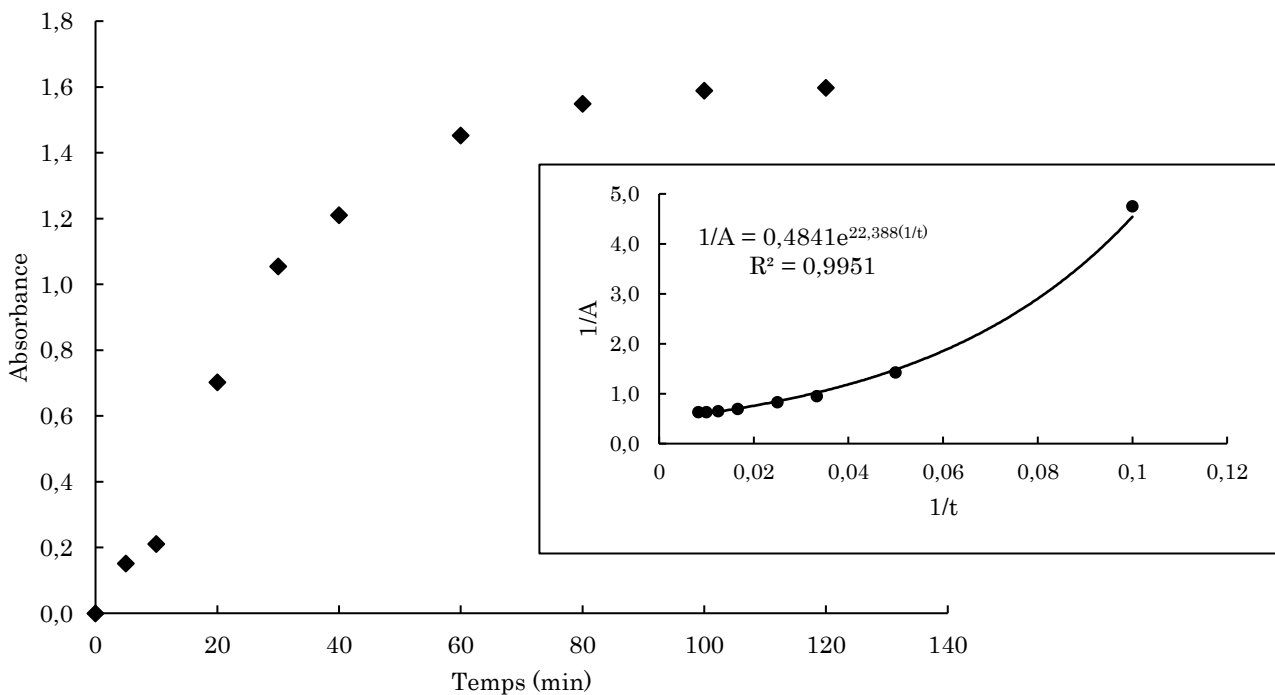


Figure 36 : Exemple de courbe de digestibilité pepsique de jambon cuit utilisé pour la détermination des paramètres de digestibilité. En encadré : la courbe exponentielle correspondante

On obtient ainsi l'équation :

$$\frac{1}{A} = \frac{1}{A_{max}} e^{\beta(\frac{1}{t})}$$

où β est un coefficient décrivant la forme de la courbe. L'extrapolation de $1/t = 0$ donne A_{max} et $t_{1/2} = \beta/\ln 2$.

La quantité de peptides hydrolysés (P_{max}) correspondant à A_{max} peut être obtenue :

$$P_{max} \text{ (en g/l)} = \frac{A_{max}}{A_{280 \text{ nm SAB } 1\text{g/l}}}$$

$A_{280 \text{ nm SAB } 1\text{g/l}} = 0,5353$ (absorbance à 280 nm du SAB à une concentration de 1 g/l)

Le degré de digestibilité (D_{max}) correspondant à P_{max} et A_{max} peut être calculé par rapport à la quantité de protéine totale initiale dans les échantillons, comme suit :

$$D_{max} (\%) = \frac{P_i - P_{max}}{P_i} \times 100$$

P_i : concentration en protéine initiale totale

P_{max} : concentration de protéine après digestion gastrique et / ou intestinale

V.3.7. Electrophorèse des protéines

Le profil des protéines du jambon cuit (traité ou non par hautes pressions et biopréservé ou non) ainsi que des échantillons pendant la digestion *in vitro* est déterminé par électrophorèse SDS-PAGE (électrophorèse en gel de polyacrylamide contenant du dodécylsulfate de sodium) selon Laemmli (1970). L'électrophorèse SDS-PAGE est une technique consistant à faire migrer des protéines dans un gel, sous l'influence d'un champ électrique, permettant ainsi leur séparation selon leur taille. Le SDS est un détergent anionique fort. Il a la propriété de défaire la structure spatiale en se fixant sur les protéines et de les charger négativement et ainsi de les séparer uniquement en fonction de leur masse moléculaire.

Pour le jambon cuit, quatre grammes d'échantillon broyé sont mélangés avec 4 ml de tampon de dénaturation (tris-HCL 0.125 M à pH 6.8 (4 % (m/v) SDS, 1 % (m/v) 2- β -Mercaptoéthanol, 0.02 % (m/v) bleu de bromophénol). Le mélange est homogénéisé à l'aide d'un ultradisperseur (Ultra Turrax T-25 IKA® Staufen Im Breisgau, Allemagne) pendant 2 x 30 s à 11000 rpm. L'homogénat est ensuite chauffé au bain marie à 100 °C pendant 5 min puis centrifugé à 10000 g pendant 5 min à 20 °C. Le surnageant est récupéré puis dilué 5 fois à l'aide du tampon de dénaturation.

Pendant la digestion pepsique, 500 μ l de digestat sont prélevés à différents temps (0, 5, 10, 20, 30, 40, 60, 90 et 120 min) puis 400 μ l du même tampon de dénaturation y sont ajoutés. Le pH des digestats pepsiques étant acide (environ 1,8 à 2), 100 μ l de NaOH 1N est ajouté afin de les neutraliser. De même, pendant la digestion trypsique, 500 μ l de digestat sont prélevés à 0, 10, 20, 30, 60 et 120 min puis 500 μ l de tampon de

dénaturation y sont ajoutés. L'ajustement du pH n'est plus nécessaire puisque le pH des digestats tryptique est déjà basique (pH 8). L'homogénéat est ensuite chauffé au bain marie à 100 °C pendant 5 min puis centrifugé à 10000 g pendant 5 min à 20 °C.

La séparation est effectuée sur un gel à 12 % d'acrylamide (Mini-PROTEAN® TGX™ Precast Gels, BIO-RAD, Etats-Unis) à l'aide d'un système de migration automatique verticale (Mini-PROTEAN® Tetra Cell system BIO-RAD). La migration est effectuée à des tensions imposées 250 V-20 mA-3 W. Des phases de coloration, décoloration et conservation sont ensuite effectuées respectivement avec du bleu de coomassie dilué dans 60 % d'éthanol et 20 % d'acide acétique (v/v), un mélange d'acide acétique/éthanol/eau (10/30/60 ; v/v) et un mélange de glycérol/acide acétique/eau (10/10/80 ; v/v). Des marqueurs de poids moléculaire ont été utilisés sur chaque gel pour déterminer les poids moléculaires des bandes de protéines. Les gels ont ensuite été numérisés avec un scanner d'image (GE Healthcare, États-Unis) et les bandes ont été analysées avec le logiciel Multi Gauge (Science Lab, FUJIFILM).

VI. Évaluation sensorielle

VI.1. Principe de la méthode

Une évaluation sensorielle olfactive a été effectuée sur le jambon cuit biopréservé et/ou traité par hautes pressions afin d'évaluer si le traitement combiné a un impact sur l'odeur du jambon cuit traditionnel. La méthode utilisée est un test triangulaire qui a été réalisé selon la norme NF EN ISO 4120 (2007). Il s'agit d'une méthode qui permet de déterminer s'il existe une différence d'odeur perceptible entre le jambon cuit traditionnel et le jambon cuit traité.

Les sujets reçoivent un ensemble de trois échantillons codés et sont informés que deux échantillons sont semblables et qu'un est différent. Comme il s'agit d'un test à choix forcé, les sujets doivent désigner l'échantillon qu'ils pensent être différent même si ce choix ne repose que sur une supposition. Le nombre de réponses correctes est comptabilisé et sa signification déterminée par référence à une table statistique (Annexe 2) avec un risque $\alpha = 0,05$.

VI.2. Mode opératoire

L'analyse sensorielle olfactive est effectuée en parallèle des analyses microbiologiques c'est-à-dire à J+1 et à J+15 durant le vieillissement accéléré (10 jours à 4 °C puis 20 jours à 8 °C). Après le traitement par hautes pressions et/ou la biopréservation, 10 à 12 g de jambon sont placés dans des flacons préalablement numérotés au hasard avec des codes à trois chiffres. Il faut veiller à ce que les cubes de jambon soient les plus identiques possible afin que les sujets ne soient pas capables d'identifier les échantillons d'après la manière dont ils sont présentés, d'après leur couleur ou encore d'après la taille des cubes. Les échantillons sont maintenus à leur température de stockage jusqu'à ce qu'ils soient présentés aux sujets. La fiche détaillant les instructions données aux sujets lors du test est présentée en Annexe 3. Un minimum de 24 sujets non entraînés est requis pour ce test triangulaire de différence. Les différents échantillons testés ainsi que les différentes séries de test sont présentés dans le tableau 14

Tableau 14 : Les différentes séries testées lors de l'analyse sensorielle triangulaire

Série	Echantillon 1	Echantillon 2	Effet à mettre en évidence
Série 1	Jambon témoin	Jambon pressurisé	Effet de la pression sur l'odeur du jambon cuit
Série 2	Jambon témoin	Jambon biopréservé	Effet de la souche bioprotectrice sur l'odeur de jambon cuit
Série 3	Jambon témoin	Jambon biopréservé puis traité par HP	Effet du traitement combiné sur l'odeur du jambon cuit
Série 4	Jambon pressurisé	Jambon biopréservé puis traité par HP	Effet de la souche bioprotectrice sur l'odeur du jambon pressurisé
Série 5	Jambon biopréservé	Jambon biopréservé puis traité par HP	Effet de la pression sur l'odeur du jambon biopréservé

VII. Traitement statistique

L'objectif des expériences est d'étudier l'influence des facteurs (pression, stockage et présence de bactéries protectrices) sur les caractéristiques du jambon cuit. Les résultats sont indiqués en moyenne \pm intervalle de confiance. Les analyses statistiques sont réalisées grâce au logiciel Statgraphics Centurion XVII version 17.2 (Statpoint Technologies, Inc, Virginie, Etats-Unis). L'interprétation des résultats se base sur l'analyse de variance pour évaluer les effets des facteurs et leurs interactions. Lorsque l'analyse démontre au moins une différence significative ($p < 0,05$), le test de Tukey est réalisé avec un niveau de confiance de 95 % afin de déterminer entre quelles conditions existe une différence significative ($p < 0,05$). Le test de Tukey est effectué sur l'ensemble des échantillons et les différences significatives sont signalées par des lettres différentes. Les échantillons possédant au moins une lettre en commun ne sont donc pas significativement différents.

Un test de corrélation linéaire a ensuite été réalisé par calcul des coefficients r de Pearson avec un niveau de confiance de 95 % ($p < 0,05$) afin d'évaluer l'existence de corrélation entre les différents indicateurs étudiés. Ainsi, les variables peuvent être non corrélées ($r = 0$, hypothèse nulle) ou corrélées (positivement : $r > 0$ ou négativement $r < 0$, hypothèse alternative).

Pour être interprété, le coefficient de corrélation r doit être significatif (la valeur de p doit être plus petite que 0,05). Lorsque le coefficient de corrélation est significatif, deux informations peuvent être tirées :

- Le sens de la relation linéaire entre les deux variables : Le coefficient de corrélation varie entre - 1 et 1. Un coefficient de 1 indique une corrélation positive parfaite entre les deux variables. À l'inverse, un coefficient de - 1 indique une corrélation négative parfaite (lorsque la variable x augmente, la variable y diminue dans la même proportion).

- La force de la relation linéaire entre les deux variables : Plus la valeur du coefficient est proche de + 1 ou de - 1, plus les deux variables sont associées fortement. Au contraire, plus le coefficient est près de 0, moins l'association est forte.

La force de la relation entre les variables peut ensuite être catégorisée avec les balises de Cohen (Cohen, 1988) qui caractérisent la taille de l'effet. La taille de l'effet représente l'écart entre l'hypothèse nulle et l'hypothèse alternative. Une taille d'effet de 0 correspond à l'hypothèse nulle. Par exemple, l'hypothèse nulle du test de corrélation de Pearson est que $r = 0$. Ainsi, pour connaître la taille de l'effet, il suffit de comparer les valeurs des coefficients de corrélation r qui sont significatifs ($p < 0,05$) aux balises de Cohen représentées ci-après :

Coefficient de Pearson (r)	Effet/Corrélation
Autour de 0,10	Faible
Autour de 0,30	Moyen
Supérieur à 0,50	Fort

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION

I. EFFET DES HAUTES PRESSIONS ET DE LA BIOPRÉSERVATION SUR L'ACCEPTABILITÉ MICROBIOLOGIQUE ET SENSORIELLE DU JAMBON CUIT SUPÉRIEUR

La durée de conservation des produits carnés est généralement définie par la numération de la flore d'altération endogène ainsi que par le développement d'odeurs et/ou d'apparences inacceptables. En effet, la détérioration des produits carnés par les bactéries est souvent liée à la production d'acides, d'arômes désagréables et de composés dégradant la couleur, entraînant ainsi le rejet du produit. Les critères microbiologiques et sensoriels sont donc intimement liés et contribuent fortement à l'acceptabilité du produit par le consommateur.

Le traitement par hautes pressions est reconnu pour inactiver de façon efficace la flore d'altération des produits carnés. Cependant, la combinaison de ce procédé avec l'utilisation de flores protectrices est encore peu documentée. Il est donc intéressant d'étudier l'effet des hautes pressions sur la flore protectrice ajoutée, ainsi que l'effet synergique potentiel de ces deux procédés sur la microbiologie du jambon cuit et sur sa qualité sensorielle.

I.1. Acceptabilité microbiologique du jambon cuit traité par hautes pressions et biopréservé

L'acceptabilité microbiologique a été évaluée de deux façons. Dans un premier temps, une méthode de vieillissement accéléré a été appliquée afin de simuler au mieux les conditions auxquelles le produit pourrait être soumis jusqu'à sa consommation. Les fluctuations dans la chaîne du froid se produisent fréquemment et entraînent une détérioration précoce des produits carnés réfrigérés. Par conséquent, il est important d'étudier la dynamique des populations de la flore d'altération des produits carnés réfrigérés selon une cinétique de température imitant la chaîne de distribution et les habitudes de stockage du consommateur qui peuvent affecter la durée de conservation finale des produits. L'ensemble de la chaîne du froid n'étant pas maîtrisé par le professionnel, une rupture à 8 °C doit être envisagée et, compte tenu que le produit peut être pendant une grande partie de sa durée de vie chez le consommateur, le scénario thermique préconisé est le suivant : 1/3 de la durée de vie, qui sera estimée à 30 jours dans notre étude, à +4 °C et 2/3 à +8 °C (Garry & Delingue, 2011). Cette méthodologie est usuellement appliquée pour la validation de la durée de vie microbiologique des aliments, et permet d'évaluer l'efficacité du procédé hautes pressions et de la biopréservation lorsque la chaîne de froid n'est pas maîtrisée. Les analyses microbiologiques ont été effectuées à J+1 pour estimer la charge initiale des échantillons, à J+15 pour évaluer l'effet de la rupture de la chaîne de froid et enfin à J+30.

Dans un deuxième temps, un dénombrement de la flore mésophile aérobie a été réalisé au cours du stockage réfrigéré à 4 °C pendant 42 jours (J+1, J+7, J+14, J+21 et J+42). Ceci a permis d'avoir une évaluation globale du comportement de la flore endogène face au traitement par hautes pressions combiné ou non à la biopréservation et aussi de constater le recouvrement de la flore endogène au cours d'un stockage classique à 4 °C.

I.1.1. Evolution de la flore endogène au cours d'un vieillissement accéléré

Les résultats du dénombrement de la flore aérobie mésophile ainsi que de la flore lactique sont présentés en figure 37.

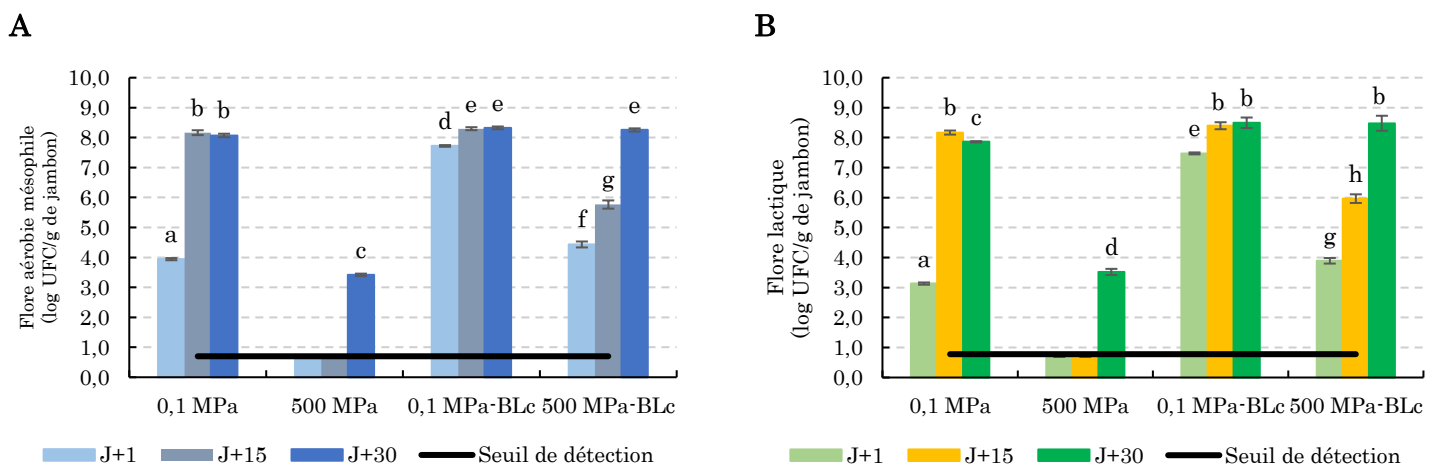


Figure 37 : Evolution de la flore aérobie mésophile (A) et de la flore lactique (B) du jambon cuit, biopréservé *L. lactis* et/ou traité par hautes pressions au cours du stockage avec un vieillissement accéléré

a. Bactéries aérobies mésophiles

La charge initiale (flore aérobie mésophile) du jambon cuit témoin (0,1 MPa) est de $3,94 \pm 0,04$ log UFC/g ce qui correspond à la charge initiale retrouvée couramment dans la littérature pour le jambon cuit et la viande saumurée cuite emballé sous vide (Han *et al.*, 2011, Samelis *et al.*, 2000). Les opérations de cubage et de conditionnement postérieures à la cuisson pourraient être source de contamination ce qui explique la présence de microorganismes à J+1. Le passage à 8 °C après 10 jours augmente ensuite fortement la charge en bactéries aérobies mésophiles jusqu'à atteindre $8,07 \pm 0,06$ log UFC/g à J+30.

Le traitement à 500 MPa pendant 5 min a réduit la charge microbienne en dessous du seuil de détection de la méthode jusqu'à J+15. Malgré la rupture de la chaîne de froid, le nombre de bactéries aérobies mésophiles est toujours maintenu en dessous du seuil de détection. Ce n'est qu'à J+30 qu'elles deviennent dénombrables, la charge bactérienne passant alors à $3,42 \pm 0,04$ log UFC/g.

L'ajout de la souche bioprotectrice augmente la flore aérobie mésophile initiale de 4 log UFC/g par rapport au jambon cuit témoin à J+1. Le niveau de charge microbienne augmente légèrement mais significativement ($p < 0,05$) à J+15 puis reste constant jusqu'à J+30 ($8,32 \pm 0,05$ log UFC/g).

Le traitement par hautes pressions réduit fortement la charge microbienne du jambon cuit biopréservé. Juste après le traitement par hautes pressions, le nombre de bactéries aérobies mésophiles est de $4,43 \pm 0,10$ log UFC/g pour l'échantillon biopréservé puis pressurisé contre $7,72 \pm 0,03$ log UFC/g pour l'échantillon biopréservé. Étant donné qu'aucun développement microbien n'est observé dans l'échantillon après traitement à 500 MPa, on peut supposer que les bactéries qui se sont développées dans l'échantillon biopréservé puis pressurisé sont les bactériesensemencées. Ceci témoignerait donc de la capacité de la souche de biopréservation utilisée à recroître après le traitement par hautes pressions. Lors de l'étape de sélection des souches bioprotectrices décrite dans la publication de Ramaroson *et al.* (2018), il a été mis en évidence que la souche de *L. lactis*, inoculée dans un milieu jambon modèle, reprenait en croissance après un traitement à 500 MPa pendant 10 min. Une reprise de croissance est observée à J+15 ($5,77 \pm 0,14$ log UFC/g) jusqu'à atteindre le même niveau de charge microbienne que l'échantillon biopréservé. Toutefois, à ce stade, il n'est pas possible d'affirmer que les bactéries dénombrées à J+30 sur l'échantillon biopréservé puis pressurisé sont celles qui ont étéensemencées, puisque sur l'échantillon uniquement pressurisé une reprise de croissance est également observée à J+30.

b. Bactéries lactiques

À J+1, les bactéries lactiques représentent 81 % de la flore endogène initiale. Par la suite, le nombre de bactéries lactiques est quasiment identique à celui des bactéries aérobies mésophiles quel que soit le traitement (pressurisé, biopréservé, biopréservé et pressurisé) pendant les 30 jours de stockage. Les bactéries lactiques sont le principal groupe bactérien capable de se développer sur les produits carnés saumurés, cuits et conditionnés sous vide ou sous atmosphère modifiée et stockés à des températures de refroidissement (Kreyenschmidt *et al.* 2010 ; Samelis *et al.*, 2000). Une partie des bactéries lactiques a donc survécu à l'étape de cuisson. Wu (2008) a montré que les cellules lésées sont potentiellement aussi importantes que les cellules non endommagées et qu'elles peuvent ensuite se régénérer et être capables de croître normalement. Les bactéries non endommagées se sont donc multipliées dans le jambon cuit au cours du stockage. Ce recouvrement des bactéries lactiques au cours du stockage a été constaté sur plusieurs études sur du jambon cuit et des produits carnés cuits (Dušková *et al.*, 2016 ; Han *et al.*, 2011 ; Audenaert *et al.*, 2010).

Bien que des études sur l'effet des facteurs intrinsèques et extrinsèques sur le taux de croissance et la capacité compétitive de bactéries lactiques dans les viandes cuites aient été effectuées, il existe très peu de rapports sur la manière dont ces facteurs sélectionnent le genre ou l'espèce qui prédominent (Borch *et al.*, 1996). Toutefois, il est important de le savoir, car le potentiel altérant des bactéries lactiques ne dépend pas seulement de leur taux de croissance, mais aussi de l'activité métabolique spécifique des différentes espèces qui poussent ou sont présentes dans des produits carnés cuits sous certaines conditions de stockage. De plus, le taux de croissance et le type de bactéries lactiques sont principalement liés à l'étendue et au type de

contamination initiale, telle que la « flore industrielle » résidente, le site et la période de fabrication et l'hygiène de la transformation (Samelis *et al.*, 2000 ; Borch *et al.*, 1996)

I.1.2. Evolution de la flore aérobique mésophile au cours du stockage à 4 °C

La figure 38 montre l'évolution de la flore aérobique mésophile au cours d'un stockage classique à 4 °C pendant 42 jours. Ceci permet d'évaluer l'effet de la pression ainsi que du traitement combiné quand la chaîne du froid est respectée, et de voir dans quelle mesure le procédé peut contribuer au maintien de la sécurité microbiologique du jambon cuit.

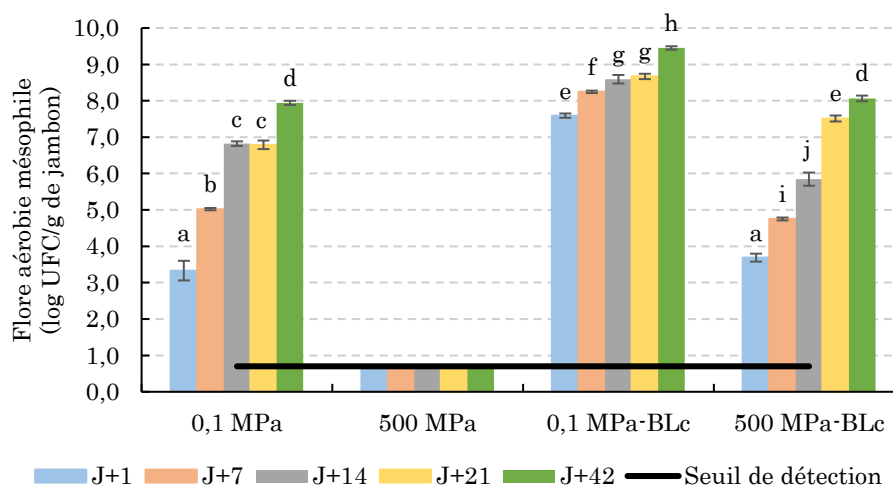


Figure 38 : Evolution de la flore aérobique mésophile au cours d'un stockage à 4 °C

Les résultats de dénombrement montrent qu'avec un stockage à 4 °C, le nombre de bactéries aérobies mésophiles est initialement de $3,33 \pm 0,27$ log UFC/g et atteint $6,79 \pm 0,12$ log UFC/g à J+21. Ce n'est qu'à J+42 que la population bactérienne mésophile atteint la même proportion qu'à J+30 lors d'un stockage avec rupture de chaîne du froid (respectivement $7,94 \pm 0,06$ et $8,07 \pm 0,06$ log UFC/g). Ceci montre bien que le respect de la chaîne de froid est indispensable pour maintenir la qualité microbiologique des aliments. Le procédé par hautes pressions inactive la flore aérobique mésophile jusqu'à 42 jours avec un stockage à 4 °C tandis qu'avec une rupture de la chaîne du froid, un début de croissance est observé à J+30. La cinétique de croissance des bactéries aérobies mésophiles des échantillons biopréservés et/ou pressurisés stockés à 4 °C est identique à celle des échantillons stockés avec une rupture du froid.

I.1.3. Identification des microorganismes dénombrés

Afin d'évaluer l'efficacité du traitement combiné, l'identification a été effectuée sur l'échantillon biopréservé puis pressurisé à J+1, J+15 et J+30, stocké avec une rupture de la chaîne de froid. Les isolats utilisés sont ceux issus du milieu PCA. À chaque jour de prélèvement, un soucier de 15 à 20 isolats a été constitué. La figure 39 rend compte de la répartition des isolats après identification des colonies par la technique de séquençage de l'ADN_r 16S.

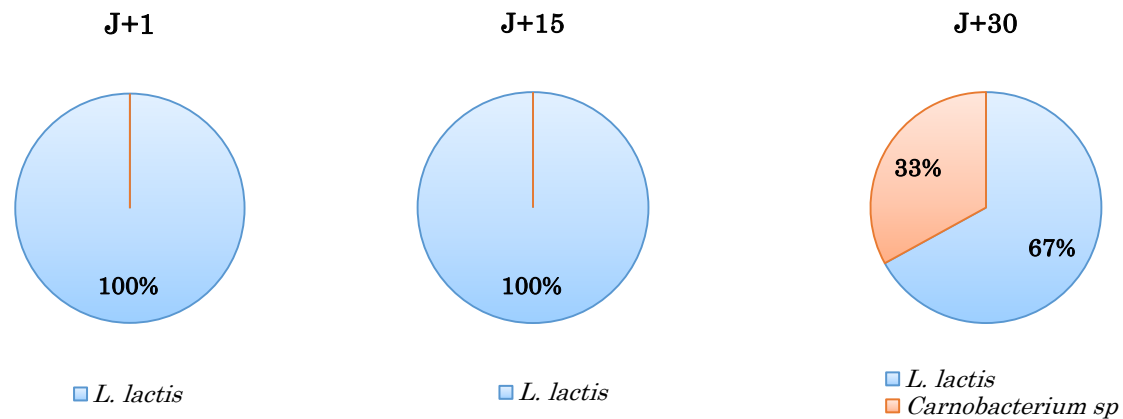


Figure 39 : Composition et répartition moyenne des isolats bactériens obtenus après identification par séquençage de l'ADNr 16s

Les résultats de l'identification des bactéries isolées ont montré qu'à J+1, 100 % des bactéries isolées sur l'échantillon de jambon cuit biopréservé puis pressurisé correspondent à *L. lactis* la souche bioprotectriceensemencée. À J+15, le même constat est observé. Ce n'est qu'à J+30 qu'on observe la croissance d'une autre espèce de bactérie lactique *Carnobacterium sp*.

Les carnobactéries sont des bactéries lactiques ubiquitaires isolées des milieux froids et tempérés. Aussi, elles prédominent fréquemment dans une gamme d'aliments, y compris le poisson, la viande et certains produits laitiers. À cet égard, elles ont été largement étudiées en tant que cultures protectrices, pour inhiber les microorganismes pathogènes et d'altération, et comme bactéries potentielles d'altération dans les produits à base de viande réfrigérés (Leisner *et al.*, 2007, Groth Laursen *et al.*, 2005). Notamment, *Carnobacterium divergens* est une des bactéries responsables de la détérioration et de l'altération de la saveur et de la texture du jambon cuit emballé sous vide (Comi & Iacumin, 2012 ; Borch *et al.*, 1996).

I.2. Analyse sensorielle olfactive du jambon cuit

Il est communément admis que le taux d'échec pour les produits innovants sur le marché des produits alimentaires est très élevé, probablement en raison de la tendance à reporter la production d'informations sur les consommateurs à un stade ultérieur, le stade où des prototypes physiques sont disponibles. Il est donc crucial de comprendre et de considérer l'acceptation des consommateurs dès les premiers stades du développement de nouveaux produits (Grunert *et al.*, 2011). Des tests triangulaires ont donc été réalisés afin de détecter une potentielle différence d'odeur induite par les différents traitements appliqués (hautes pressions, biopréservation et traitement combiné). Les résultats de ces tests triangulaires de différence sont présentés dans le tableau 15.

Tableau 15 : Effet de la biopréservation combiné ou non avec les hautes pressions sur l'odeur du jambon cuit supérieur

Jour de stockage	Echantillons comparés		Nombre de sujets	Nombre de réponses correctes	Différence perceptible ou non	
J+1	Test 1	Jambon témoin	Jambon pressurisé	32	10	NON
	Test 2	Jambon témoin	Jambon biopréservé		23	OUI
	Test 3	Jambon témoin	Jambon biopréservé puis pressurisé		12	NON
	Test 4	Jambon pressurisé	Jambon biopréservé puis pressurisé		13	NON
	Test 5	Jambon biopréservé	Jambon biopréservé puis pressurisé		24	OUI
J+15	Test 1	Jambon témoin	Jambon pressurisé	30	17	OUI
	Test 2	Jambon témoin	Jambon biopréservé		17	OUI
	Test 3	Jambon témoin	Jambon biopréservé puis pressurisé		21	OUI
	Test 4	Jambon pressurisé	Jambon biopréservé puis pressurisé		24	OUI
	Test 5	Jambon biopréservé	Jambon biopréservé puis pressurisé		26	OUI

À J+1, les juges n'ont constaté aucune différence d'odeur significative entre le jambon cuit témoin (non traité) et le jambon cuit pressurisé. L'ajout de la bactérie bioprotectrice au jambon cuit témoin entraîne une différence d'odeur perceptible qui disparaît quand la biopréservation est combinée avec la pression. Par ailleurs, le jambon pressurisé et le jambon biopréservé puis pressurisé ne présentent pas de différence d'odeur significative. Par contre, à J+15, des différences d'odeur significatives sont perçues par les juges sur l'ensemble des tests effectués.

À la suite des tests triangulaires, il a été demandé aux juges de décrire l'odeur de l'échantillon qu'ils ont identifié comme différent. Ainsi, lorsqu'une différence d'odeur significative est constatée, les descriptions les plus fréquemment données par les juges dont la réponse est correcte (juges ayant identifié l'échantillon différent des deux autres) ont été relevées. Ces descriptions ont ensuite été reliées à chaque échantillon (Tableau 16).

Tableau 16 : Description des odeurs perçues lors du test triangulaire de différence

Temps de stockage		Echantillons comparés	Différence d'odeur ou non	Description de la différence d'odeur
J+1	Test 1	Jambon témoin	Pas de différence d'odeur	
		Jambon pressurisé		
	Test 2	Jambon témoin	Différence d'odeur significative	Odeur de salaison, odeur de « jambon », odeur moins forte
		Jambon biopréservé		Odeur de crème, odeur de lait, odeur douce
	Test 3	Jambon témoin	Pas de différence d'odeur	
		Jambon biopréservé puis pressurisé		
	Test 4	Jambon pressurisé	Pas de différence d'odeur	
		Jambon biopréservé puis pressurisé		
	Test 5	Jambon biopréservé	Différence d'odeur significative	Odeur plus forte, odeur de crème
		Jambon biopréservé puis pressurisé		Pas d'odeur, odeur moins forte, odeur de charcuterie
J+15	Test 1	Jambon témoin	Différence d'odeur significative	Odeur de viande crue, odeur fumée, odeur acide, odeur de tomate
		Jambon pressurisé		Odeur moins forte, odeur plus douce, odeur épicée
	Test 2	Jambon témoin	Différence d'odeur significative	Odeur âcre, odeur acide, odeur « oxydée », odeur intense
		Jambon biopréservé		Odeur plus douce, odeur de biscuit, odeur moins forte, moins intense
	Test 3	Jambon témoin	Différence d'odeur significative	Forte odeur de viande, odeur de charcuterie, odeur fumée
		Jambon biopréservé puis pressurisé		Odeur crémeuse, odeur de lait, odeur fruitée
	Test 4	Jambon pressurisé	Différence d'odeur significative	Odeur neutre, odeur moins forte, odeur de charcuterie
		Jambon biopréservé puis pressurisé		Odeur de yaourt, odeur plus douce, odeur fruitée
	Test 5	Jambon biopréservé	Différence d'odeur significative	Odeur plus intense, odeur « grasse »
		Jambon biopréservé puis pressurisé		Odeur plus douce, moins forte

I.3. Discussion et conclusion sur l'acceptabilité microbiologique et l'analyse sensorielle olfactive du jambon cuit

Les changements microbiologiques pendant le stockage dépendent des conditions de traitement (biopréservation et/ou pression) et de la température de stockage. La flore endogène du jambon cuit est principalement constituée par les bactéries lactiques qui prédominent traditionnellement la population bactérienne dans le jambon cuit sous vide. En effet, lorsque stocké en conditions anaérobies et sous réfrigération, par exemple par emballage sous vide ou emballage sous atmosphère modifiée, les bactéries lactiques dominent le processus d'altération (Samelis *et al.*, 2000).

Selon Slongo *et al.*, 2009, la charge bactérienne acceptable pour les produits carnés cuits prêts à consommés est de 10^7 UFC/g. L'application des hautes pressions permet de maintenir la charge microbienne du jambon cuit en dessous de ce niveau jusqu'à 42 jours de stockage à 4 °C, tandis que sans traitement par hautes pressions, ce niveau est atteint dès le 14^{ème} jour de stockage à 4 °C. En cas de rupture de la chaîne de froid, le traitement par hautes pressions permet de maintenir la charge bactérienne en dessous du niveau requis jusqu'à 30 jours. Le traitement par hautes pressions serait donc efficace pour l'inactivation des bactéries végétatives du jambon cuit et permettrait de prolonger sa durée de vie.

De plus, le jambon cuit traité par hautes pressions ne présente pas d'odeur significativement différente de celle du jambon non traité à J+1, mais une différence d'odeur se fait sentir à J+15 de stockage avec rupture de la chaîne du froid. Ce changement d'odeur coïncide avec l'augmentation de la charge bactérienne et notamment des bactéries lactiques dans le jambon cuit non traité. En effet, alors que le nombre de bactéries lactiques dans le jambon traité est en dessous de la limite de détection à J+15, celui du jambon cuit non traité est déjà à environ 8 log UFC/g. On peut supposer que l'apparition de différence d'odeur serait en lien avec l'augmentation de la charge bactérienne et notamment des bactéries lactiques. En effet, l'apparition d'odeurs désagréables fait partie de la dégradation apparente causée par l'activité métabolique des bactéries lactiques, qui peuvent provoquer l'apparition d'arômes désagréables, d'exsudats laiteux, de décoloration et de gonflement de l'emballage par la production de gaz (Vermeiren *et al.*, 2004). Lorsque l'apport de source de carbone nécessaire à chaque cellule bactérienne est insuffisant pour supporter un métabolisme homofermentaire, comme dans une matrice carnée, un passage métabolique de la fermentation homo- à la fermentation hétérolactique pendant la croissance anaérobie est constaté en raison de l'épuisement des sucres (Borch *et al.*, 1991). Ainsi, la croissance continue en anaérobiose des bactéries lactiques homofermentaires (comme les *Lactobacillus*) pendant l'épuisement en sucres s'accompagne d'une utilisation intensive d'acides aminés conduisant à la formation de composés volatiles comme des aldéhydes, des phénols, de l'indole et des alcools (Liu *et al.*, 2008). Ceci pourrait expliquer l'odeur acide, l'odeur de viande crue, de fumée décrite par les juges. Le traitement par hautes pressions permettrait donc d'inhiber la croissance des microorganismes susceptibles d'altérer le jambon cuit et par conséquent de limiter les composés volatiles responsables d'odeurs désagréables. Garriga *et al.* (2004) ont également observé une inactivation microbienne importante après avoir traité du jambon cuit emballé sous vide par hautes pressions. En évaluant l'odeur, la formation de gaz, le changement de couleur et la formation d'exsudat en

parallèle des dénombrements bactériens au cours du stockage, ils ont conclu que l'inactivation microbienne contribue à préserver les caractéristiques sensorielles du produit. L'ajout de la souche bioprotectrice augmente significativement la charge microbienne quelles que soient les conditions de stockage. Dès J+1, la différence d'odeur perçue entre le jambon témoin et le jambon biopréservé est due à cette augmentation de la charge microbienne. Cependant, lorsque la biopréservation est combinée au traitement par hautes pressions, ce dernier diminue la charge microbienne, et ainsi la charge microbienne du jambon cuit témoin et du jambon cuit biopréservé sont quasiment identiques. Ceci expliquerait qu'aucune différence d'odeur n'est perçue entre ces deux échantillons à J+1. À J+15, une différence d'odeur devient perceptible entre tous les échantillons. Les juges ont décrit l'odeur du jambon cuit comme plus intense et plus forte par rapport au jambon biopréservé et/ou pressurisé. De plus, à J+15, l'odeur du jambon cuit témoin leur a paru âcre, acide « oxydée », fumée. Par contre, sur les jambons biopréservés combinés ou non à la pression, l'odeur perçue par les juges est plutôt en lien avec une odeur « lactée » (crème, yaourt, lait, odeur grasse). L'identification d'isolats après dénombrement a montré que jusqu'à J+15, 100 % des bactéries prélevées sur le jambon cuit biopréservé puis pressurisé correspondent à *L. lactis*. Cette souche a donc repris en croissance après le traitement par hautes pressions et a inhibé la croissance des autres microorganismes. L'odeur « lactée » perçue par les juges dans les jambons biopréservés pourrait être liée au développement de *L. lactis*. En effet, dans l'espèce *L. lactis*, il existe des sous-espèces qui peuvent produire du diacétyle (2,3-butanedione) et de l'acétoïne (3-Hydroxy-2-butanone). Le diacétyle est un composé volatil qui, présent en petites quantités, confère une note de beurre et de crème aux produits laitiers et constitue un composé aromatique essentiel du camembert, de l'emmental et du cheddar (Cavanagh *et al.*, 2015 ; Curioni & Bosset, 2002). À J+30, le développement d'une autre espèce, *Carnobacterium sp.*, est observé. Cependant, *L. lactis* reste toujours majoritaire dans la matrice.

Au vu des résultats, l'utilisation de *L. lactis* avec le traitement par hautes pressions serait un procédé intéressant afin de maintenir la qualité microbiologique du jambon cuit réduit en nitrites. Après le traitement par hautes pressions, *L. lactis* reprend en croissance, se développe et domine la flore endogène au cours du stockage et ainsi serait susceptible d'inhiber les bactéries d'altération et les agents pathogènes. Cependant, l'apparition d'odeur liée à l'activité métabolique de *L. lactis* est également observée au fur et à mesure du stockage. Cependant, la méthodologie utilisée a seulement permis de détecter une différence d'odeur et de décrire cette différence mais non d'affirmer si l'odeur est plaisante ou non. Il n'est donc pas possible, pour le moment, de conclure si l'odeur du jambon cuit traditionnel est préférée à celle du jambon cuit biopréservé puis pressurisé. Entre autres, le traitement par hautes pressions à 500 MPa (5 min à 20 °C) a permis d'inhiber le développement de la flore endogène jusqu'à 42 jours à 4 °C et ainsi d'augmenter la durée de vie du jambon cuit réduit en nitrite. Aussi, du point de vue sensoriel, le traitement par hautes pressions, par l'inhibition de la flore altérante, permettrait de maintenir la qualité olfactive du jambon cuit traditionnel. Cependant, les hautes pressions, dans les barèmes utilisés ici, sont efficaces sur les bactéries végétatives et/ou pathogènes mais leur efficacité sur les bactéries sporulantes n'est pas avérée. Ainsi, c'est dans le cas d'une contamination par ces bactéries sporulantes que la combinaison de l'utilisation de *L. lactis* avec les hautes pressions serait intéressante.

II. EFFET DES HAUTES PRESSIONS ET DE LA BIOPRÉSERVATION SUR LES PROPRIÉTÉS TECHNOLOGIQUES DU JAMBON CUIT SUPÉRIEUR

L'évaluation de l'acceptabilité microbiologique du jambon cuit traité par hautes pressions a permis de confirmer l'effet positif de la pression à 500 MPa sur le prolongement de la durée de vie du jambon cuit. De plus, la possibilité d'utilisation de *L. lactis* comme souche bioprotectrice en combinaison avec les hautes pressions a pu être mise en évidence. Toutefois, l'impact du procédé hautes pressions combiné ou non à la biopréservation sur les propriétés technologiques du jambon cuit reste encore à définir.

Cette partie est donc dédiée à l'évaluation des changements subis par la matrice. Ainsi, le pH, la capacité de rétention d'eau, l'exsudation, la couleur et la texture ont été quantifiés sur le jambon cuit témoin (0,1 MPa), le jambon cuit pressurisé (500 MPa), le jambon cuit biopréservé (0,1 MPa-BLc) et le jambon cuit biopréservé puis pressurisé (500 MPa-BLc). Les différentes analyses ont été réalisées sur 21 jours de stockage à 4 °C.

L'évaluation de la composition de ces différents échantillons de jambon cuit (Tableau 17) a été confié au laboratoire d'analyses INOVALYS (Nantes, France).

Tableau 17 : Composition nutritionnelle des échantillons de jambon cuit utilisés pour l'ensemble des expériences (Résultats INOVALYS)

	Jambon cuit témoin (0,1 MPa)	Jambon cuit pressurisé (500 MPa)	Jambon cuit biopréservé (0,1 MPa-BLc)	Jambon cuit biopréservé puis pressurisé (500 MPa-BLc)
Eau (g/100g)	70,83	70,60	70,20	70,65
Protéines (g/100g)	25,29	25,44	25,84	25,38
Lipides (g/100g)	2,47	2,20	2,32	2,26
Glucides (g/100g)	0,23	0,20	0,16	0,12
Cendres (g/100g)	2,58	2,51	2,61	2,46
Sel (NaCl) (g/100g)	1,77	1,74	1,81	1,74
Nitrites (mg/kg)	3,63	3,70	1,55	2,65

Le jambon cuit utilisé dans cette étude peut être classé dans la catégorie du jambon cuit « supérieur » (comparaison avec les valeurs du tableau 3). La teneur en protéines est plus élevée que la teneur en protéines minimum requise pour pouvoir prétendre à cette catégorie. La teneur en lipides est en-dessous de la teneur maximale requise. Ceci est dû au muscle utilisé qui est un muscle maigre et à cela s'ajoute une étape de parage où un maximum de gras est enlevé. La teneur en glucides est également inférieure à la teneur maximale requise et le taux de sel correspond au taux imposé pour la catégorie jambon cuit « supérieur ».

La teneur en nitrite résiduel du jambon cuit témoin et du jambon cuit pressurisé sont similaires. Cependant, l'ajout de bactéries lactiques diminue la teneur en nitrite résiduel avec une teneur encore plus faible dans le jambon cuit biopréservé que dans le jambon cuit biopréservé puis pressurisé. Cette diminution peut être liée à la capacité de certaines bactéries lactiques à réduire le nitrite qui est constaté dans les produits carnés fermentés où les bactéries lactiques sont utilisées comme ferments (Kim *et al.*, 2017).

II.1. pH du jambon cuit

Les résultats des mesures des différents échantillons de jambon cuit au cours du stockage à 4 °C sont présentés dans le tableau 18.

Tableau 18 : Evolution de pH (moyenne \pm intervalle de confiance) du jambon cuit, biopréservé et/ou traité par hautes pressions au cours du stockage. Les lettres différentes indiquent des différences significatives entre tous les échantillons (n=3)

	J+1	J+7	J+14	J+21
0,1 MPa	5,90 \pm 0,03 ^{ab}	5,91 \pm 0,05 ^{abd}	5,91 \pm 0,05 ^{abd}	5,79 \pm 0,05 ^{gi}
500 MPa	5,89 \pm 0,01 ^a	5,94 \pm 0,01 ^{bde}	5,97 \pm 0,02 ^{eh}	6,02 \pm 0,02 ^h
0,1 MPa - BLc	5,82 \pm 0,02 ^c	5,64 \pm 0,02 ^f	5,59 \pm 0,02 ⁱ	5,54 \pm 0,03 ^j
500 MPa - BLc	5,88 \pm 0,01 ^a	5,96 \pm 0,03 ^{de}	5,95 \pm 0,01 ^{de}	6,00 \pm 0,01 ^h

Le pH initial du jambon cuit est d'environ 5,9 ce qui correspond aux valeurs de pH retrouvées dans la littérature. Le pH du jambon cuit témoin (0,1 MPa) présente une légère baisse au cours du stockage réfrigéré. Cette diminution de pH est encore plus importante avec l'ajout de la bactérie bioprotectrice (0,1 MPa-BLc). En effet, déjà à J+1, le pH de l'échantillon biopréservé est légèrement mais significativement ($p < 0,05$) plus faible que celui du jambon témoin. À J+21, cette différence de pH est encore plus marquée même si le pH de ces deux échantillons a diminué au cours du stockage (différence de 0,25 unité de pH à J+21). Cette diminution correspond au développement microbien, et notamment des bactéries lactiques, qui survient au cours du stockage. En effet, les bactéries lactiques produisent de l'acide (principalement de l'acide lactique) pendant leur croissance, ce qui diminue la valeur du pH du milieu (Hayek & Ibrahim, 2013).

Le traitement par hautes pressions n'a pas d'effet significatif sur le pH à J+1 après traitement. Cependant, le pH de l'échantillon traité par hautes pressions augmente significativement au cours du stockage réfrigéré ($\Delta\text{pH} = 0,13$ unité entre J+1 et J+21). Cette augmentation de pH pourrait être due aux changements conformationnels se produisant en raison de la dénaturation des protéines sous l'effet de la pression. Ce phénomène pourrait être assimilé à celui se produisant lors de la cuisson. En effet, la dénaturation thermique des protéines myofibrillaires du porc et du bœuf serait accompagnée d'un déplacement du point isoélectrique vers une région plus alcaline ce qui signifie une plus grande exposition des groupements basiques (Bendall, 1962). Ma & Ledward (2004) ont émis l'hypothèse que, bien que les structures établies par hautes pressions et chauffage puissent être différentes, le mode de déploiement est similaire. Cependant, le dépliement des protéines est beaucoup moins intense dans les échantillons traités par hautes pressions que dans les échantillons cuits. Cette augmentation du pH par la pression a été montrée sur plusieurs matrices de viande : poulet (Ros-Polski *et al.*, 2015), mēlée de bœuf (Sikes *et al.*, 2009), porc mariné (Wang *et al.*, 2015), chèvre (Jalarama Reddy *et al.*, 2015).

L'échantillon biopréservé puis pressurisé présente un pH similaire à celui de l'échantillon témoin et à celui de l'échantillon pressurisé à J+1 mais qui augmente au cours du stockage. Le traitement par hautes pressions semble donc induire l'augmentation du pH même avec l'augmentation de la charge microbienne au cours du stockage. Cela suggère donc que la flore lactique ayant résisté au traitement par hautes pressions n'a pas pu retrouver sa capacité d'acidification normale, ou que les bactéries qui ont survécu sont des espèces moins acidifiantes.

Le traitement par hautes pressions ayant un effet sur les protéines, il est possible que le procédé perturbe également le pouvoir tampon de la viande, ce qui pourrait expliquer l'augmentation du pH. Cette hypothèse a été testée par Duranton (2012) en évaluant le pouvoir tampon de la viande de porc par titration à l'aide d'acide fort et/ou base forte. Toutefois aucun effet significatif de la pression sur le pouvoir tampon de la viande n'a été observé.

II.2. Capacité de rétention d'eau du jambon cuit

La capacité de rétention d'eau (CRE) est évaluée par la perte d'eau engendrée par l'application d'une force centrifuge. Il s'agit de déterminer la quantité d'eau qui est fortement liée à la matrice, et notamment aux protéines, afin de prévoir la qualité finale du produit. La mesure de la CRE permet d'avoir un aperçu de l'étendue de la dénaturation des protéines et d'évaluer leur capacité à retenir l'eau présente dans la matrice. L'évolution de la CRE du jambon cuit est présentée dans le tableau 19.

Tableau 19 : Évolution de la CRE en % (moyenne \pm intervalle de confiance) du jambon cuit, biopréservé et/ou traité par hautes pressions au cours du stockage. Les lettres différentes indiquent des différences significatives (n=3)

	J+1	J+7	J+14	J+21
0,1 MPa	42,91 \pm 1,67 ^a	40,92 \pm 0,90 ^b	40,08 \pm 1,68 ^{bef}	39,37 \pm 1,11 ^{befh}
500 MPa	42,88 \pm 1,09 ^a	37,15 \pm 0,60 ^{cd}	37,38 \pm 1,82 ^{cdg}	38,91 \pm 0,38 ^{dfgh}
0,1 MPa - BLc	43,94 \pm 0,91 ^a	40,97 \pm 0,90 ^b	38,10 \pm 0,45 ^{dgh}	36,19 \pm 0,83 ^c
500 MPa - BLc	44,94 \pm 1,41 ^a	38,86 \pm 1,48 ^{ce}	39,10 \pm 1,51 ^{efgh}	38,58 \pm 1,36 ^{dfgh}

Les valeurs CRE des échantillons n'ont pas de différence significative à J+1. Une diminution significative de la CRE est par ailleurs observée sur tous les échantillons entre J+1 et J+7. Cette diminution est plus prononcée pour les échantillons pressurisés (500 MPa : 13 % et 500 MPa-BLc : 14 %) par rapport aux autres échantillons non traités (0,1 MPa : 5 %, 0,1 MPa-BLc : 6 %). Les hautes pressions induisent donc une diminution de la CRE.

À partir de J+7, la CRE reste stable pour le jambon cuit témoin et le jambon cuit pressurisé ainsi que le jambon cuit biopréservé puis pressurisé. Cependant, la CRE du jambon biopréservé continue à diminuer légèrement mais significativement jusqu'à J+21. Entre J+1 et J+21, une perte de 18 % de la CRE est observée pour l'échantillon biopréservé. L'ajout de bactéries bioprotectrices perturberait donc plus la capacité de rétention d'eau du jambon cuit au cours du stockage.

II.3. Exsudation du jambon cuit

L'exsudation représente la perte de liquide pendant le stockage réfrigéré, ce qui constitue l'un des principaux problèmes rencontrés dans les produits carnés emballés sous vide car les consommateurs y reconnaissent intuitivement un manque de jutosité de la viande. L'accumulation de fluides peut également favoriser la croissance de microorganismes (Grossi *et al.*, 2014). L'évolution de la synérèse du jambon cuit non traité, traité par HP, biopréservé et / ou pressurisé au cours du stockage réfrigéré est présentée sur la figure 40.

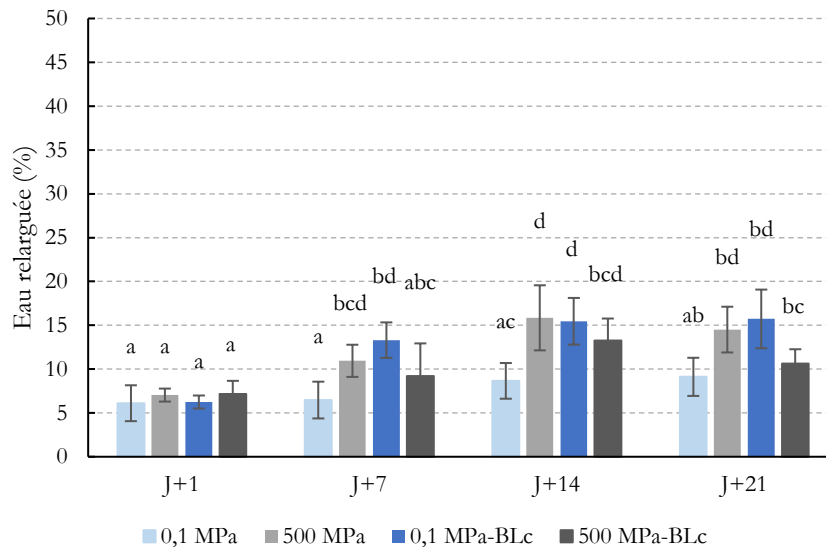


Figure 40 : Quantité d'eau relarguée en % (moyenne \pm intervalle de confiance) par le jambon cuit, biopréservé traité et/ou traité par hautes pressions au cours du stockage. Les lettres différentes indiquent des différences significatives (n=6)

À J+1, la quantité d'eau relarguée naturellement n'est pas significativement différente entre les échantillons ($p > 0,05$). Au cours de stockage, l'exsudation tend à augmenter. Pour le jambon cuit témoin, cette augmentation n'est pas significative jusqu'à la fin de la période de stockage. Pour le jambon pressurisé, la quantité d'eau relarguée augmente significativement (de 35 %) à J+7 puis augmente mais non significativement jusqu'à J+21.

Le relargage d'eau observé entre J+1 et J+7 sur l'échantillon biopréservé est plus important (une augmentation de 53 %). Ensuite, il évolue légèrement jusqu'à J+21 mais cette augmentation est non significative ($p < 0,05$). Avec le traitement combiné, la quantité d'eau relarguée par le jambon cuit évolue légèrement durant le stockage atteignant une différence de 32 % entre J+1 et J+21.

Pietrzak et al. (2007) ont observé une augmentation significative de l'exsudation sur du jambon cuit traité à 600 MPa (20 °C, 10 min). En revanche, Lopez-Caballero et al. (1999) n'ont pas vu de différence d'exsudation entre le jambon cuit non traité et celui traité à 400 MPa (7 °C, 20 min). L'influence des hautes pressions sur la rétention d'eau semble donc être dépendante de la température et du niveau pression.

II.4. Couleur du jambon cuit

La couleur des produits carnés saumurés est une composante extrêmement critique, principalement en raison de son influence sur les préférences des consommateurs. Les effets de la génétique, du pH des matières premières, des procédés technologiques tels que l'utilisation du nitrite de sodium et des additifs alimentaires ayant un effet antioxydant ont déjà été largement étudiés comme facteurs contribuant à la détermination du niveau de couleur et de la stabilité des produits de charcuterie (Moretti *et al.*, 2009).

L'évolution des indices de couleurs dans le système L*a*b* au cours du stockage est présentée dans le tableau 20.

Tableau 20 : Évolution des indices de couleur (moyenne \pm intervalle de confiance) a* (indice de rouge), b* (indice de jaune) et L* (indice de clarté) du jambon cuit, biopréservé et/ou pressurisé au cours de stockage. Pour chaque indice, les lettres différentes indiquent des différences significatives entre les échantillons et le temps de stockage. (n=15)

	J+1	J+7	J+14	J+21	
a*	0,1 MPa	2,91 \pm 0,45 ^a	3,76 \pm 0,64 ^{ac}	4,06 \pm 0,23 ^c	4,34 \pm 0,33 ^c
	500 MPa	1,89 \pm 0,41 ^b	3,33 \pm 0,66 ^{ac}	4,00 \pm 0,53 ^c	4,19 \pm 0,83 ^c
	0,1 MPa-BLc	2,80 \pm 0,31 ^a	3,89 \pm 0,47 ^{ac}	3,63 \pm 0,58 ^c	3,25 \pm 0,37 ^c
	500 MPa-BLc	2,98 \pm 0,42 ^a	2,84 \pm 0,61 ^a	3,63 \pm 0,80 ^c	4,12 \pm 0,84 ^c
b*	0,1 MPa	8,10 \pm 0,36 ^a	7,17 \pm 0,52 ^b	7,55 \pm 0,41 ^{ab}	7,29 \pm 0,44 ^{ab}
	500 MPa	8,32 \pm 0,38 ^a	8,01 \pm 0,66 ^a	7,20 \pm 0,75 ^{ab}	7,21 \pm 0,71 ^{ab}
	0,1 MPa-BLc	8,00 \pm 0,26 ^a	7,50 \pm 0,47 ^{ab}	7,21 \pm 0,40 ^b	7,51 \pm 0,61 ^{ab}
	500 MPa-BLc	8,05 \pm 0,32 ^a	7,60 \pm 0,59 ^{ab}	7,59 \pm 0,30 ^{ab}	8,18 \pm 0,91 ^{ab}
L*	0,1 MPa	61,59 \pm 0,84 ^a	62,69 \pm 0,85 ^a	61,25 \pm 1,38 ^a	62,81 \pm 0,91 ^a
	500 MPa	62,62 \pm 0,68 ^a	62,64 \pm 1,36 ^a	59,64 \pm 1,80 ^a	62,16 \pm 1,36 ^a
	0,1 MPa-BLc	62,48 \pm 1,22 ^a	63,77 \pm 1,96 ^a	63,94 \pm 1,31 ^a	63,16 \pm 2,02 ^a
	500 MPa-BLc	61,35 \pm 0,56 ^a	62,64 \pm 1,30 ^a	63,59 \pm 4,07 ^a	61,09 \pm 2,14 ^a

Les valeurs de a* des échantillons varient entre 1,89 \pm 0,41 à 4,34 \pm 0,33, celles de b* entre 6,55 \pm 0,41 et 9,21 \pm 0,71 et celles de L* entre 59,64 \pm 1,80 et 63,59 \pm 4,07. Ces valeurs sont significativement différentes des valeurs de paramètres de couleur du jambon cuit retrouvées dans la littérature. Plus précisément, les valeurs de a* retrouvées dans notre étude sont inférieures à celles retrouvées dans la littérature tandis que les valeurs de b* et de L* sont supérieures à celles retrouvées dans la littérature (Pingen *et al.*, 2016 ; Pancrazio *et al.*, 2015 ; Li *et al.*, 2011 ; Pietrzak *et al.*, 2007 ; Válková, 2007). Ces différences de valeurs sont dues à la plus faible concentration de myoglobine dans le muscle utilisé dans notre étude, et par les différences de concentrations de nitrite utilisées dans la saumure.

À J+1, l'indice de rouge (a^*) du jambon cuit témoin, du jambon cuit biopréservé et du jambon biopréservé puis traité par hautes pressions est au même niveau. Seul l'indice de rouge du jambon cuit pressurisé est plus faible. La diminution de l'indice de de rouge après un traitement par hautes pressions pourrait être associée à l'oxydation de la myoglobine ferreuse en metmyoglobine ferrique (Carlez *et al.*, 1995) ou à la dénaturation des protéines myofibrillaires (Goutefongea *et al.*, 1995). Cette deuxième hypothèse est privilégiée dans le cas du jambon cuit puisque la metmyoglobine est stabilisée par le nitrite en formant le nitrosomyoglobine après la cuisson.

Par contre, l'ajout des bactéries bioprotectrices combiné au traitement par hautes pressions semble inhiber l'effet de la pression sur l'indice de rouge. a^* évolue ensuite de la même façon pour tous les échantillons. Il augmente légèrement au fur et à mesure du stockage. À J+21, les indices de rouge de tous les échantillons sont au même niveau.

Aucune différence significative n'est observée au niveau de l'indice de jaune b^* entre les échantillons. Malgré quelques fluctuations, la valeur n'évolue pas significativement entre J+1 et J+21 pour tous les échantillons. Les mêmes constatations sont observées pour l'indice de clarté L^* qui sont statistiquement identiques entre les échantillons et au cours du stockage.

II.5. Texture du jambon cuit supérieur

La texture de la viande détermine la sensation dans la bouche lors de la mastication et est donc importante pour la qualité du produit. Les résultats de dureté sont présentés sur la figure 41 et la cohésion sur la figure 42.

II.5.1. Dureté du jambon cuit

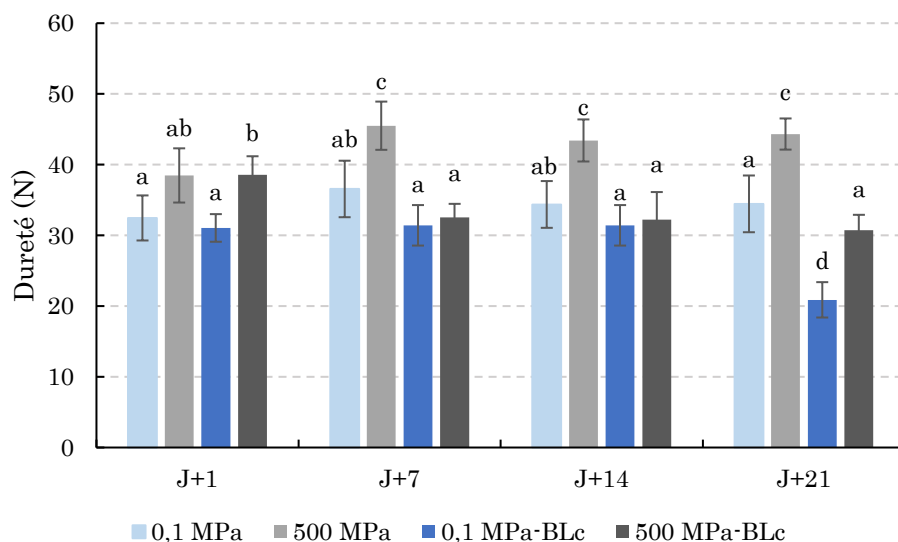


Figure 41 : Évolution de la dureté du jambon cuit traité ou non et biopréservé ou non au cours du stockage. Les lettres différentes indiquent des différences significatives (n=15)

À J+1, la dureté du jambon cuit traité par hautes pressions ne présente pas de différence significative par rapport à celle du jambon cuit non traité (respectivement $38,48 \pm 3,83$ N et $32,46 \pm 3,19$ N). Cependant, la dureté du jambon cuit biopréservé puis traité par hautes pressions est significativement plus élevée que la dureté du jambon cuit témoin et du jambon cuit biopréservé (respectivement $31,05 \pm 1,96$ N et $38,57 \pm 2,61$ N). La dureté du jambon cuit témoin reste ensuite stable au cours du stockage réfrigéré tandis que celle du jambon traité par hautes pressions augmente entre J+1 et J+7 (augmentation de 15%) avant de se stabiliser jusqu'à J+21. Cette augmentation de la dureté pourrait être due au relargage d'eau causée par la pression. En effet, l'augmentation de la dureté de la viande après hautes pressions est généralement accompagnée par une diminution significative de la rétention d'eau dans la viande (Duranton *et al.*, 2012). Quant au jambon cuit biopréservé, sa dureté reste constante jusqu'à J+14 avant de diminuer significativement à J+21 (diminution de 34 %).

Dans le jambon biopréservé puis traité par hautes pressions, une diminution de la dureté de 16 % est observée entre J+1 et J+7 ; ensuite la dureté reste stable jusqu'à J+21 et est au même niveau que le jambon cuit témoin. L'ajout de *L. lactis* semble avoir un effet sur la dureté du jambon cuit, mais cet effet semble disparaître avec l'application de la pression.

II.5.2. Cohésion du jambon cuit

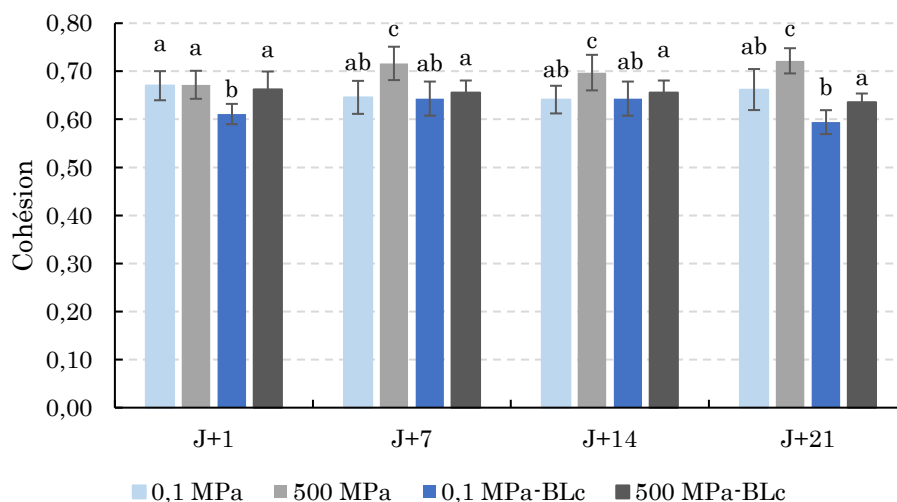


Figure 42 : Évolution de la cohésion du jambon cuit traité ou non par hautes pressions et biopréservé ou non au cours du stockage. Les lettres différentes indiquent des différences significatives (n=15)

À J+1, la cohésion des différents échantillons est constante sauf celle du jambon cuit biopréservé qui est significativement plus basse. Au cours du stockage, la cohésion du jambon cuit témoin reste stable tandis que celle du jambon cuit pressurisé augmente à J+7 avant d'être constante jusqu'à J+21. La cohésion du jambon cuit biopréservé, bien que plus basse à J+1, reste stable jusqu'à J+21. Enfin, la cohésion du jambon biopréservé puis traité par hautes pressions reste stable pendant les 21 jours de stockage, et est au même niveau que celle du jambon cuit témoin.

II.6. Discussion et conclusion sur les propriétés technologiques du jambon cuit

La viande et les produits carnés peuvent être considérés comme un mélange de différents composants chimiques et chaque constituant affecte la qualité physique indépendamment ou en combinaison avec d'autres constituants. Il est donc raisonnable de supposer que certaines interactions existent entre les constituants chimiques, c'est-à-dire l'eau, les protéines, les lipides, le sel, etc. et les propriétés physiques des produits carnés telles que la tendreté, la dureté, la cohésion, et la couleur (Cheng & Sun, 2005). De plus, les différents procédés peuvent perturber ou améliorer ces interactions. Les propriétés physiques les plus souhaitables d'un jambon cuit de haute qualité sont la cohésion, la fermeté et la jutosité qui contribuent à l'intégrité de la tranche (Katsaras & Budras, 1993). Les résultats ont montré que ces paramètres semblent être étroitement liés.

Tout d'abord, le traitement par hautes pressions n'a pas d'effet immédiat sur le pH du jambon cuit. L'effet est constaté au cours du stockage réfrigéré où on voit le pH augmenter au fur et à mesure du stockage. Cet effet sur le pH est observé même avec l'ajout de bactéries bioprotectrices. Dans le jambon non traité et non biopréservé, une diminution du pH est observée, qui correspond au développement de la flore lactique (comme vu lors du dénombrement) entraînant une légère acidification du milieu. Cette acidification du milieu est plus marquée avec l'ajout de la souche de bioprotection puisque le nombre de bactéries lactiques a augmenté dans le milieu. Les hautes pressions permettraient donc de maîtriser l'acidification du milieu provoquée par les bactéries lactiques au cours du stockage du jambon cuit.

Le traitement par hautes pressions induit un effet immédiat sur l'indice de rouge du jambon cuit. Cette diminution de l'indice de rouge a été également constaté sur d'autres produits carnés saumurés (Andrés *et al.*, 2006 ; Tanzi *et al.*, 2004). Cependant, cet effet disparaît au cours du stockage réfrigéré. L'indice de rouge augmente légèrement au cours du stockage pour tous les échantillons. Toutefois, la couleur globale du jambon cuit, qu'il soit pressurisé, biopréservé ou biopréservé puis pressurisé est restée visuellement identique à celle du jambon cuit non traité. En effet, dans les produits de viande saumurée, la nitrosomyoglobine, responsable de la couleur rose du jambon cuit, est stable après cuisson et résiste au cours d'un stockage en absence d'oxygène, de sorte que les légères fluctuations de couleur ne sont pas détectables à l'œil nu.

Une diminution de la CRE est observée au cours des premiers jours de stockage pour tous les échantillons (jusqu'à J+7). Cette diminution de la CRE évolue inversement par rapport à l'exsudation qui, augmente au cours des sept premiers jours de stockage. En effet, ces deux paramètres sont interdépendants. La CRE représente la capacité des protéines à retenir l'eau dans la matrice au cours du stockage donc si la CRE diminue, une quantité supérieure d'eau est susceptible d'être relarguée par l'échantillon. Puolanne & Halonen (2010) ont constaté que la répulsion électrostatique entre les protéines myofibrillaires cause leur éloignement, d'où un gonflement des myofibrilles. Les molécules d'eau remplissent alors l'espace libéré et se lient aux groupements polaires des acides aminés de surface (représentant ~80% des acides aminés) par des forces de van der Waals. La quantité d'eau retenue dans le muscle est donc fonction de la charge

électrique nette des protéines causant leur répulsion et augmentent la liaison à l'eau. Au point isoélectrique (pI), la charge électrique globale de la protéine est nulle. Pour un *longissimus dorsi* de porc, le pI des protéines myofibrillaires a été estimé à 5,5 (Hamm & Deatherage, 1960). Quand le pH s'éloigne de cette valeur, les protéines se chargent positivement ou négativement, des forces de répulsions entre les protéines apparaissent et entraînent un écartement du réseau protéique, offrant ainsi de la place à l'eau. L'ajout de chlorure de sodium au cours de l'étape de saumurage a diminué ce point isoélectrique et modifié la répartition des charges électriques sur les chaînes protéiques par fixation préférentielle des ions chlorure Cl⁻ sur les groupements positifs des protéines. Ceci a ainsi favorisé la capacité de rétention d'eau du muscle (Solignat & Mangin, 2003). Le gain en eau lors du saumurage se maintient lors de la cuisson. En effet, la fixation préférentielle des ions chlorure Cl⁻ sur les groupements positifs des protéines a amélioré la rétention d'eau par augmentation de la force électrostatique. La diminution de la CRE après traitement par hautes pressions est une conséquence de l'action de la pression sur ces liaisons électrostatiques établies par les ions chlorures lors du saumurage. En effet, selon le principe de Le Chatelier, la pression induit la déstabilisation des liaisons de faible énergie telle que les liaisons électrostatiques.

Par ailleurs, le traitement par hautes pressions n'a pas d'effet immédiat sur la dureté du jambon cuit mais tend à l'augmenter pendant le stockage réfrigéré. Ces résultats de dureté peuvent être corrélés avec les résultats CRE et d'exsudation. On peut, en effet, observer que l'augmentation de la dureté du jambon cuit traité par hautes pressions, combiné ou non avec la biopréservation, coïncide avec la diminution de la CRE et l'augmentation de la perte en eau (entre J+1 et J+7). La perte d'eau causée par la pression entraînerait donc un produit plus ferme au cours de l'entreposage réfrigéré. En effet, la texture des produits carnés est fortement liée au degré d'hydratation de la matrice (Gault, 1985),

Selon Cheftel & Culioli (1997), les changements conformationnels des protéines causés par les hautes pressions sont associés à des changements dans la distance des interactions intra et intermoléculaires, qui incluent les interactions protéine-eau. Ce rapprochement, selon le principe de Le Chatelier, aboutit à une structure plus compacte. De plus, ces changements de conformation peuvent entraîner le déploiement ou la dénaturation des protéines myofibrillaires et saroplasmiques, entraînant l'agrégation de leurs sous-unités (Marcos *et al.*, 2010). Le réarrangement de la structure serait responsable de l'augmentation de la dureté (Clariana *et al.*, 2011).

Cependant, la dureté du jambon cuit biopréservé tend à diminuer au cours du stockage. La même évolution est constatée pour la cohésion. L'ajout de bactéries bioprotectrices semble donc déstabiliser la structure protéique. Cette évolution de la texture du jambon biopréservé peut être liée au développement de la flore lactique au cours du stockage. En effet, la croissance bactérienne au sein du produit est un facteur pouvant affecter la protéolyse au cours du stockage, du fait des enzymes protéolytiques qui peuvent être secrétées par ces microorganismes. Toutefois, l'effet observé ici est inverse à celui observé dans les produits carnés fermentés comme les saucisses fermentées où les bactéries lactiques sont ajoutées afin d'aider au processus de maturation. Ainsi, Rubio *et al.*, (2013) ont observé une augmentation de la dureté et de la cohésion sur

des saucisses fermentées par des souches de bactéries lactiques (*Lactobacillus plantarum* 299V et *Lactobacillus rhamnosus* GG).

Pour conclure, les résultats montrent que le traitement par hautes pressions a un effet notable sur la capacité de rétention d'eau du jambon cuit, et cela même en présence de bactéries bioprotectrices. Cette diminution de la CRE a par ailleurs induit une perte d'eau lors du stockage et une augmentation de la dureté du produit. L'ajout de bactéries bioprotectrices a entraîné des effets plus prononcés sur le jambon cuit, notamment une diminution de la dureté et de la cohésion à la fin du stockage. Cependant, le traitement par hautes pressions semble palier ces effets lorsqu'il est combiné à la biopréservation. Cela pourrait être dû au ralentissement du développement microbien au sein du produit, mais également à la sélection induite par la pression sur la flore endogène et ne favorisant que le développement des bactéries bioprotectrices barorésistantes. De plus, les résultats de couleur ont montré qu'aucune modification n'est induite par le traitement combiné au cours du stockage réfrigéré.

Ainsi, du point de vue technologique, le traitement combiné « biopréservation-hautes pressions » permet de conserver la qualité technologique du jambon cuit traditionnel réduit en nitrite tout en maîtrisant la qualité microbiologique du produit.

III. EFFET DES HAUTES PRESSIONS ET DE LA BIOPRESERVATION SUR LES PROPRIETES NUTRITIONNELLES DU JAMBON CUIT SUPERIEUR

L'effet des hautes pressions, de la biopréservation et de la combinaison des deux procédés sur les propriétés microbiologiques, sensorielles et technologiques ont été mis en évidence dans les parties précédentes. L'effet de ces traitements sur les propriétés biochimiques et plus largement sur les propriétés nutritionnelles va donc être développé. Les interrogations se focaliseront sur l'effet des traitements sur l'oxydation des lipides et des protéines. Les réactions d'oxydation sont considérées comme l'une des principales causes de détérioration de la qualité des viandes et produits carnés. D'une part, l'oxydation lipidique peut conduire au développement du rancissement, de la dégradation sensorielle et de la perte de la valeur nutritionnelle du produit. L'oxydation des lipides peut également générer de nombreux produits d'oxydation nocifs pour la santé en raison d'effets cancérigènes et athérosclérotiques (Vieira *et al.* 2017). D'un autre côté, l'oxydation des protéines peut engendrer de multiples modifications notamment la destruction des acides aminés, la perte d'activité des enzymes et une digestibilité réduite des protéines. L'étude des phénomènes d'oxydation est donc nécessaire afin d'évaluer la stabilité du produit après traitement et au cours du stockage réfrigéré.

Les protéines de la viande et des produits carnés ont une grande valeur biologique puisque leur composition en acides aminés correspond à celle dont l'homme a besoin pour augmenter ou renouveler les protéines corporelles (Rémond & Duchène, 2014). Plus précisément, la viande contient les huit acides aminés essentiels qui ne peuvent pas être synthétisés par le corps (Wood, 2017). Ainsi, l'étude du devenir des protéines au cours de la fabrication du jambon cuit, traité par hautes pressions, biopréservé, et biopréservé puis traité par hautes pressions a été effectuée. En effet, la fabrication du jambon cuit nécessite plusieurs opérations successives telles que le salage, le malaxage et la cuisson. Par ailleurs, l'impact de chaque étape sur l'apparition et l'intensité des réactions affectant les protéines est mal connu. Le jambon cuit traité par hautes pressions et biopréservé est donc un bon modèle pour étudier l'évolution des protéines lors de la fabrication d'un produit à base de viande. Enfin, une évaluation de l'impact de ces différentes modifications sur la digestibilité des protéines a été effectuée.

III.1. Effet du traitement par hautes pressions, de la biopréservation et du traitement combiné sur l'oxydation des lipides du jambon cuit

L'oxydation des lipides est le résultat d'une réaction en chaîne qui se déroule en trois phases : l'initiation, la propagation et la terminaison. Les deux premières phases conduisent à la formation des produits primaires d'oxydation tels que les peroxydes, les hydroperoxydes et les diènes conjugués. Ces derniers se décomposent ensuite pour donner les produits secondaires d'oxydation (Guyon *et al.*, 2016). Les produits primaires d'oxydation étant des composés assez instables et se transformant assez rapidement en produits secondaires, nous avons choisi de présenter uniquement les résultats d'évaluation des produits secondaires qui sont représentatifs de l'état d'oxydation lipidique final du produit.

Les produits d'oxydation primaires lipidiques peuvent générer des produits d'oxydation secondaires, notamment des aldéhydes, des cétones, des époxydes et des composés hydroxylés. Ces composés présentent une grande variété de propriétés physico-chimiques, se différenciant principalement par leur volatilité, leur polarité et leur poids moléculaire. Cependant, le malondialdéhyde (MDA) est l'un des aldéhydes les plus abondants générés lors de l'oxydation des lipides secondaires et est aussi le plus couramment utilisé comme marqueur d'oxydation des viandes et produits carnés. En effet, le MDA a fait l'objet d'une attention particulière en raison du risque potentiel pour la santé, associé à ses effets mutagènes et cancérigènes (Reitznerová *et al.*, 2017). Notre choix s'est donc porté sur le dosage de ce composé pour évaluer l'oxydation des lipides dans le jambon cuit.

La méthode la plus largement utilisée pour la détermination du MDA est la détermination spectrophotométrique du complexe MDA-acide thiobarbiturique (MDA-TBA) produit après réaction avec l'acide 2-thiobarbiturique (TBA) à pH bas et à température élevée, plus communément appelée TBARS. Par ailleurs, cette méthode est souvent critiquée pour son manque de sensibilité et son imprécision, car le réactif TBA, utilisé pour le dosage, réagit non seulement avec le MDA, mais également avec de nombreux autres composés interférant dans le test TBA et entraînant une surestimation considérable ainsi que la variabilité des résultats. Une autre méthode de dosage du MDA par HPLC a donc été réalisée afin d'avoir une estimation plus précise de la quantité de MDA générée lors de l'oxydation des lipides. Ainsi, la méthode des TBARS permet une évaluation de l'oxydation lipidique globale, et le dosage du MDA par HPLC permet une estimation de la proportion de MDA produit lors de l'oxydation.

Les substrats nécessaires à l'oxydation des lipides comprennent les acides gras insaturés et des espèces chimiques telles que le fer qui accélèrent la réaction. La composition en acides gras des échantillons de jambon cuit est présentée en Annexe 4. Les viandes et produits carnés contiennent une quantité considérable de fer présent sous forme de fer hémunique ou de fer non hémunique (fer libre). Le fer sous forme de fer libre, a des activités prooxydantes et contribue à l'initiation de l'oxydation des lipides. Ainsi, un dosage de la teneur en fer libre a été réalisé en parallèle du dosage du MDA et des TBARS, pour évaluer l'éventuel effet du fer sur l'oxydation des lipides.

Enfin, une peroxydation stimulée des lipides a été réalisée afin d'évaluer la stabilité des lipides du produit dans le cas où ce dernier est exposé à un environnement prooxydant.

III.1.1. Teneur en TBARS et en MDA du jambon cuit

Une ANOVA à trois facteurs a permis de tester l'effet du traitement par hautes pressions, de la biopréservation, du temps de stockage et de leurs interactions sur l'oxydation des lipides (Annexe 5). Pour une meilleure compréhension de l'effet de chaque procédé, l'évolution des teneurs en TBARS et MDA du jambon cuit au cours du stockage sera d'abord présentée ; ensuite, l'effet de chaque traitement (hautes pressions, biopréservation et traitement combiné) sur l'oxydation des lipides et l'évolution de cette oxydation au cours du stockage seront évalués individuellement, afin d'en apprécier la significativité.

a. Evolution des teneurs en TBARS et MDA du jambon cuit au cours du stockage réfrigéré

L'évolution des teneurs en TBARS et MDA du jambon cuit supérieur au cours du stockage réfrigéré est présentée dans la figure 43.

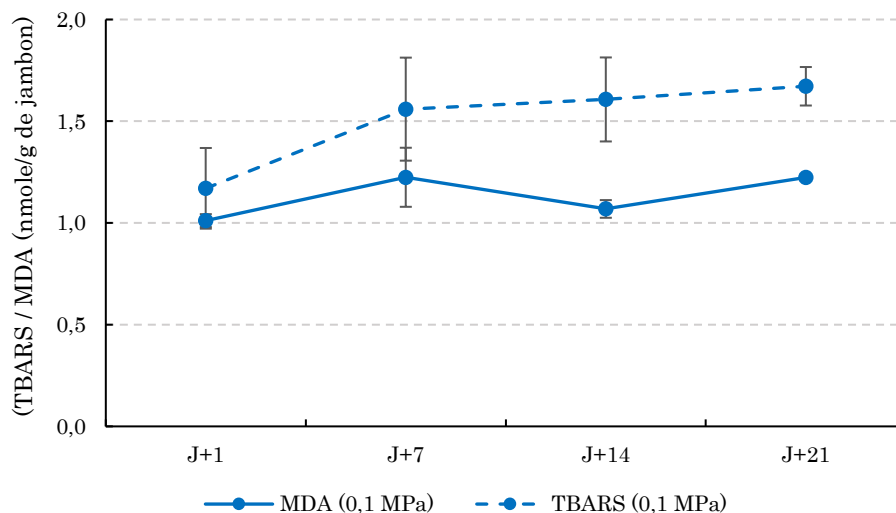


Figure 43 : Teneurs en TBARS et MDA du jambon cuit au cours du stockage réfrigéré. Les moyennes ($n=3$) ont été différenciées par le test de Tukey à un niveau de confiance de 95 %. Les barres représentent l'intervalle de confiance de chaque moyenne.

À J+1, les teneurs en TBARS et en MDA du jambon cuit sont similaires. Cela signifie que les produits d'oxydation secondaire générés à J+1 seraient exclusivement du MDA. Les teneurs augmentent ensuite significativement à J+7 ($p<0,05$) aussi bien pour les TBARS que le MDA mais aucune différence n'est trouvée entre les deux teneurs. A J+14, la teneur en TBARS reste stable par rapport à J+7 tandis que la teneur en MDA diminue entre J+7 et J+14. La diminution en MDA peut être due à la tendance du MDA à former un complexe avec des acides aminés, du glycogène ou du nitrite résiduel dans le cas de produits saumurés tels que le jambon cuit que nous avons utilisés pour cette étude (Gokalp *et al.*, 1983, Papastergiadis *et al.*, 2012 ; Haile *et al.*, 2013), Entre J+14 et J+21, la teneur en MDA augmente de nouveau pour être à la même teneur qu'à J+14. Cela indiquerait que l'oxydation des lipides est un phénomène qui se poursuit au cours du stockage et qu'il y a encore formation de produits d'oxydation dans le milieu. La différence de teneur entre MDA et TBARS à J+14 et J+21 montre que d'autres produits d'oxydation secondaire auraient été générés au cours du stockage.

b. Effet de la pression sur les teneurs en TBARS et MDA du jambon cuit

Les résultats du dosage des TBARS et du MDA du jambon cuit pressurisé comparés à ceux du jambon cuit témoin sont présentés dans la figure 44. Les analyses statistiques des résultats (Annexe 5) ont montré que la pression (500 MPa/20 °C/5 min) et le temps de stockage ont des effets sur les teneurs en TBARS et en MDA du jambon cuit, avec l'existence d'un effet significatif de l'interaction entre les deux facteurs.

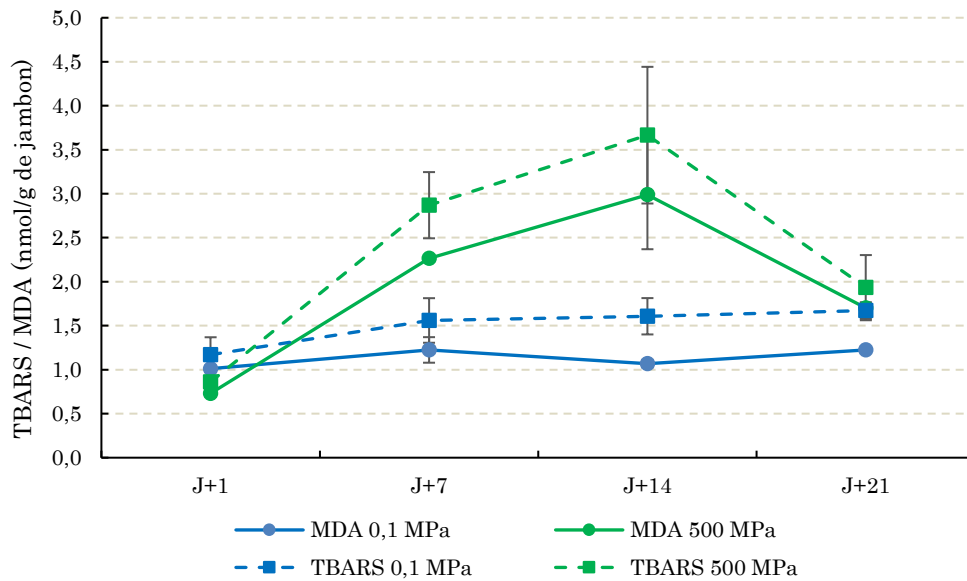


Figure 44 : Effet du traitement par hautes pressions sur les teneurs en TBARS et MDA du jambon cuit durant 21 jours de stockage réfrigéré. Les moyennes ($n=3$) ont été différenciées par le test de Tukey à un niveau de confiance de 95 %. Les barres représentent l'intervalle de confiance de chaque moyenne.

À J+1, les teneurs en TBARS et en MDA du jambon cuit pressurisé sont similaires. Cependant, les teneurs en TBARS et en MDA du jambon cuit pressurisé sont légèrement mais significativement plus faibles que celles du jambon cuit témoin. Une faible oxydation des lipides se serait donc déjà mise en place au premier jour de stockage du jambon cuit non traité par hautes pressions. Les TBARS et les MDA du jambon cuit pressurisé évoluent ensuite de la même façon au cours de stockage. Une forte augmentation est observée entre J+1 et J+7 (68 % pour le MDA et 70 % pour les TBARS). Cependant, la teneur en TBARS est plus élevée que celle du MDA à J+7. Une augmentation non significative des TBARS et du MDA se produit à J+14. De plus, les teneurs en TBARS et MDA sont similaires à J+14. À J+21, les teneurs ont fortement diminué aussi bien en MDA qu'en TBARS et les teneurs des deux composés sont similaires.

L'oxydation des lipides n'apparaît donc pas immédiatement après pression mais au cours du stockage réfrigéré. Les mêmes conclusions ont été observées par Villamonte *et al.* (2017) ; Tume *et al.* (2010), Mariutti *et al.* (2008) ; Orlien, Hansen & Skibsted (2000). Plusieurs hypothèses ont été émises sur les mécanismes induisant l'oxydation des lipides sous l'effet des hautes pressions. Premièrement, il a été suggéré que l'augmentation du taux d'oxydation des lipides serait due à la libération d'ions fer à partir de l'hémoprotéine lors du traitement par hautes pressions (Carlez *et al.*, 1995). Certains auteurs ont également suggéré que le traitement par hautes pressions pouvait favoriser l'oxydation des lipides en provoquant des perturbations des membranes cytoplasmiques des lipides. He *et al.* (2012) ainsi que Huang *et al.* (2012) ont confirmé que les phospholipides sont altérés à une pression de 500 MPa (20 min, 20 ° C). La rupture membranaire faciliterait ainsi le contact entre les lipides insaturés de la membrane et les enzymes et catalyseurs tels que le fer hémérique, le fer non hémérique et d'autres cations métalliques, contribuant ainsi au déclenchement de l'oxydation lipidique (Bolumar *et al.*, 2014).

De plus, les produits d'oxydation secondaires évoluent différemment dans le jambon cuit et dans le jambon pressurisé. Toutefois, la coexistence de différents produits d'oxydation secondaires est observée à un certain moment du stockage, que le produit soit traité ou non par hautes pressions. En effet, à part le MDA, l'oxydation des acides gras insaturés peut générer une multitude de composés volatiles. À titre d'exemple, dans les produits à base de viande de porc cuite, l'octanal, le nonanal et le 2-undecenal sont des produits d'oxydation de l'acide oléique (C18:1) (Frankel, 2005) qui est l'acide gras majoritaire (environ 40 % des acides gras totaux) dans le jambon cuit utilisé dans cette étude ; l'hexanal, le 3-nonanal et le 2,4-décadienal sont les principaux produits d'oxydation volatiles de l'acide linoléique (C18:2, ω -6 ; environ 9,4 % des acides gras totaux) et le 1-octène-3-ol est le produits d'oxydation de l'acide arachidonique (C20:4, 2,4 % des acides gras totaux) (Shahidi, 1994). Tous ces composés sont susceptibles de réagir avec le TBA

c. Effet de la biopréservation sur les teneurs en TBARS et MDA du jambon cuit

Les résultats du dosage du MDA et des TBARS du jambon cuit biopréservé comparés à ceux du jambon cuit témoin sont présentés dans la figure 44. Les analyses statistiques des résultats (Annexe 5) ont montré que la teneur en MDA n'est pas influencée par la biopréservation mais uniquement par le temps de stockage. Cependant, la teneur en TBARS est influencée par les deux facteurs biopréservation et stockage mais l'interaction entre les deux n'a pas d'effet sur la teneur en TBARS.

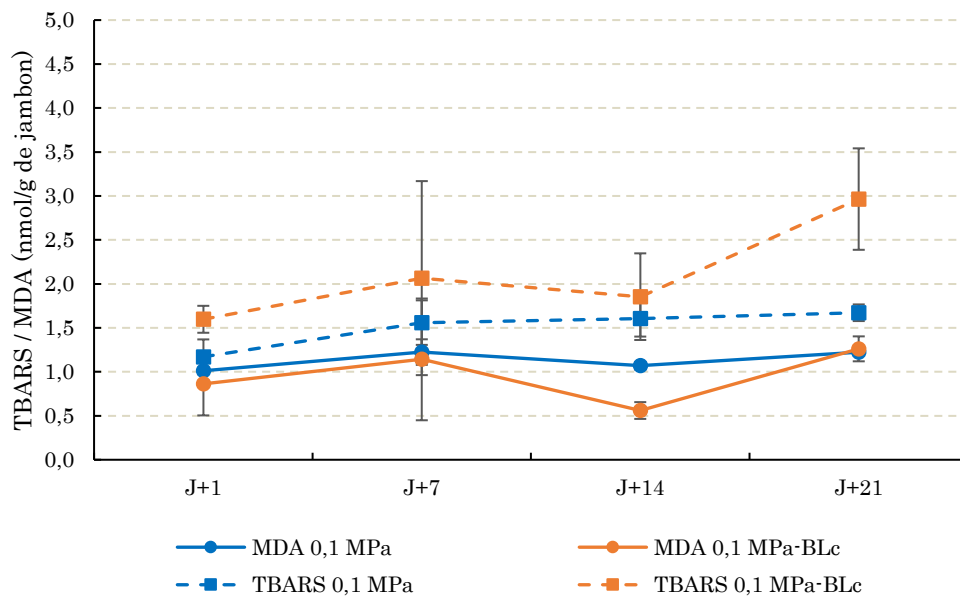


Figure 45 : Teneurs en TBARS et MDA du jambon cuit biopréservé au cours du stockage réfrigéré. Les moyennes (n=3) ont été différenciées par le test de Tukey à un niveau de confiance de 95 %. Les barres représentent l'intervalle de confiance de chaque moyenne.

À J+1, la teneur en MDA du jambon cuit biopréservé est similaire à celle du jambon cuit témoin. Cependant, la teneur en TBARS du jambon cuit pressurisé est significativement plus élevée que celle du jambon cuit témoin. De même, la teneur en TBARS ($1,60 \pm 0,15$ nmol/g de jambon) est significativement plus élevée

que la teneur en MDA ($0,86 \pm 0,36$ nmol/g de jambon) dans le jambon cuit biopréservé tandis qu'elles sont similaires dans le jambon cuit témoin. Ainsi, des produits secondaires d'oxydation lipidique, autres que le MDA, ont donc été générés dans le jambon cuit biopréservé dès le premier jour de stockage, à l'inverse du jambon cuit témoin où seul le MDA a été détecté.

La teneur en MDA du jambon cuit biopréservé reste assez constante durant le stockage réfrigéré sauf à J+14 où on observe une légère diminution non significative mais la teneur reste similaire entre J+1 et J+21. De plus, malgré une légère différence à J+14, la teneur en MDA du jambon cuit biopréservé est en générale similaire à celle du jambon cuit témoin.

Les teneurs en MDA et en TBARS évoluent de la même façon dans le jambon cuit biopréservé durant le stockage réfrigéré. Cependant, la teneur en TBARS est plus élevée que la teneur en MDA comme ce qui est observé dans le jambon cuit témoin. A J+7 et J+14, la teneur en TBARS des deux échantillons est similaire. A J+21, la teneur en TBARS du jambon cuit biopréservé est significativement plus élevée que celle du jambon cuit témoin.

d. Effet du traitement combiné 'biopréservation-hautes pressions' sur les teneurs en TBARS et MDA du jambon cuit

Les résultats du dosage du MDA et des TBARS du jambon cuit biopréservé puis traité par hautes pressions, comparés à ceux du jambon cuit témoin sont présentés dans la figure 46. Les analyses statistiques des résultats (Annexe 5) ont montré que la teneur en MDA et TBARS est influencée par les deux facteurs (traitement combiné et stockage) et que l'interaction entre les deux facteurs a également un effet significatif.

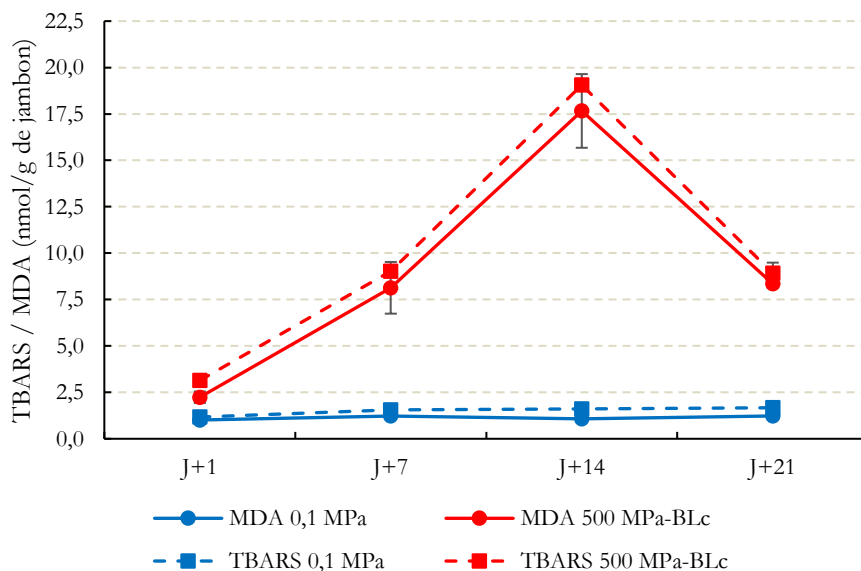


Figure 46 : Teneurs en TBARS et MDA du jambon cuit biopréservé puis pressurisé au cours du stockage réfrigéré. Les moyennes ($n=3$) ont été différenciées par le test de Tukey à un niveau de confiance de 95 %. Les barres représentent l'intervalle de confiance de chaque moyenne.

L'effet du traitement combiné est observé directement à J+1. Les teneurs en MDA et en TBARS du jambon cuit biopréservé puis pressurisé (respectivement $2,24 \pm 0,31$ nmol/g de jambon et $3,14 \pm 0,34$ nmol/g de jambon) sont supérieures à celles du jambon cuit témoin (respectivement $1,01 \pm 0,03$ nmol/g de jambon et $1,17 \pm 0,20$ nmol/g de jambon). De plus, la teneur en TBARS est plus élevée que la teneur en MDA dans le jambon cuit biopréservé puis pressurisé. A partir de J+7 et jusqu'à J+21, la teneur en MDA et en TBARS du jambon cuit biopréservé puis pressurisé sont identiques ce qui signifie que le MDA est le produit secondaire d'oxydation lipidique majoritairement détecté dans le milieu.

A J+7, la teneur en MDA du jambon cuit biopréservé puis pressurisé augmente fortement (72 %) puis continue à augmenter de 54 % entre J+7 et J+14. Et c'est à J+14 que la teneur en MDA est la plus élevée avec $17,66 \pm 1,99$ nmol/g de jambon cuit. A J+21, la teneur en MDA diminue pour être au même niveau qu'à J+7. Toutefois, à la fin du stockage réfrigéré J+21), la teneur en MDA du jambon cuit biopréservé puis pressurisé ($8,35 \pm 0,22$ nmol/g de jambon) est nettement plus élevée que celle du jambon cuit témoin ($1,22 \pm 0,02$ nmol/g de jambon). La combinaison de la biopréservation et du traitement par hautes pressions a donc un effet fortement significatif sur la teneur en MDA du jambon cuit.

Certaines bactéries lactiques, même si elles ne sont pas courantes, sont connues pour présenter une activité lipolytique. Cette propriété est souvent observée lors de la fabrication de fromage. Afin d'accélérer la maturation du fromage, de nombreuses études ont tenté d'induire une lyse bactérienne avec différentes méthodes pour libérer les enzymes intracellulaires dans la matrice du fromage qui favorisent la lipolyse et le développement des arômes au cours de la maturation. Il a été rapporté que certaines cultures commerciales améliorent la lipolyse dans les pâtes de fromage (El-Soda *et al.*, 1999), et l'utilisation de souches autolytiques de *L. lactis* comme ferment entraîne une accumulation accrue d'acides gras libres dans le cheddar (Collins *et al.*, 2003). Ainsi, les souches productrices de bactériocine (bactéries bioprotectrices), et le traitement par hautes pressions sont deux des approches actuelles pour améliorer la lyse bactérienne et la libération d'enzymes dans le fromage. Dans leur étude, Ávila *et al.* (2007) ont montré une augmentation d'acides gras libres dans du fromage Hispánico auquel on a ajouté des souches de *L. lactis* puis traité par hautes pressions à 400 MPa (5 min, 10 °C) pendant l'affinage, par rapport au fromage non traité par hautes pressions.

Le même phénomène pourrait se produire dans le jambon cuit biopréservé puis traité par hautes pressions. L'action combinée de la biopréservation et de la pression pourrait induire une lyse des bactéries entraînant ainsi la libération d'enzymes lipolytiques des bactéries. Ceci aboutirait à une augmentation des acides gras libres dans le milieu, qui seront les cibles des pro-oxydants présents dans le milieu. En effet, l'utilisation de bactéries lactiques peut conduire à des effets léthaux sur la flore endogène du produit comme il a été expliqué dans la synthèse bibliographique (Partie I – III-1-4). De même, les hautes pressions sont connues pour avoir un effet délétère sur les microorganismes. Ceci pourrait donc également conduire à une libération des enzymes lipolytiques. Cependant, la biopréservation toute seule ne semble pas conduire à une augmentation de l'oxydation des lipides comme vu précédemment, mais combinée à la pression, l'oxydation des lipides est fortement favorisée. Cela pourrait être dû au fait que le traitement combiné a conduit à une forte

accumulation d'acides gras libres, et à l'effet pro-oxydant du traitement par hautes pressions qui entraîne la libération du fer de l'hème ou encore la rupture membranaire.

III.1.2. Teneur en fer libre du jambon cuit

L'effet des différents traitements sur la teneur en fer libre est présenté sur la figure 47.

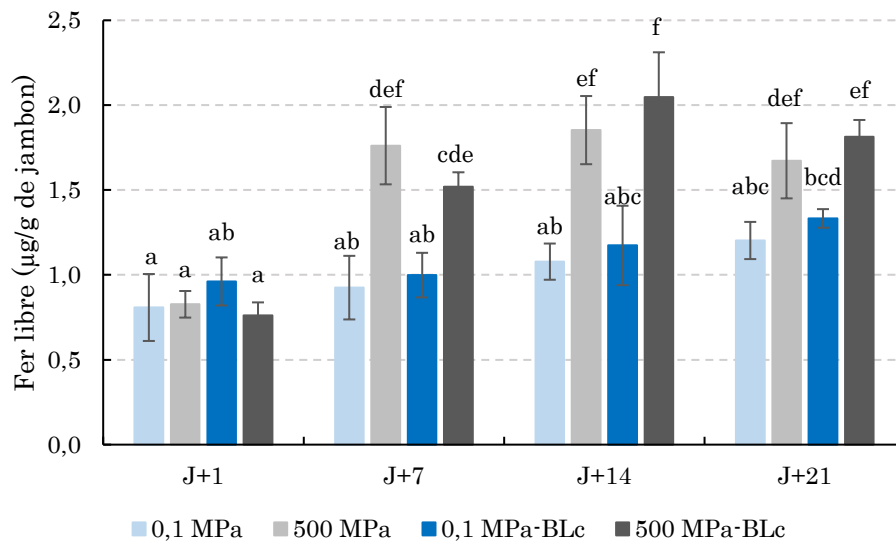


Figure 47 : Teneur en fer libre dans le jambon cuit témoin, le jambon cuit pressurisé, le jambon cuit biopréservé et le jambon cuit biopréservé puis pressurisé au cours du stockage réfrigéré. Les moyennes (n=3) ont été différenciées par le test de Tukey à un niveau de confiance de 95 %. Les barres représentent l'intervalle de confiance de chaque moyenne et les lettres différentes indiquent des différences significatives

La teneur initiale en fer libre du jambon cuit est de $0,81 \pm 0,20 \mu\text{g/g}$. A J+1, aucun des traitements appliqués (hautes pressions, biopréservation et traitement combiné) n'a d'effet significatif sur la teneur en fer libre du jambon cuit. De plus la teneur en fer libre des échantillons non pressurisés (0,1 MPa et 0,1 MPa-BLc) reste stable au cours du stockage réfrigéré. Cependant, une nette augmentation de la teneur en fer libre (53 %) est observée dans l'échantillon pressurisé (500 MPa) à J+7, puis la teneur reste constante jusqu'à J+21. Pour l'échantillon biopréservé puis pressurisé, une augmentation significative de 49 % est également observée entre J+1 et J+7, puis la teneur continue encore à augmenter de 26 % entre J+7 et J+14, avant de se stabiliser jusqu'à J+21. La teneur en fer libre dans l'échantillon biopréservé puis pressurisé augmente donc séquentiellement au cours du stockage, néanmoins la teneur est similaire à celle de l'échantillon pressurisé.

En effet, l'ANOVA à plusieurs facteurs (Annexe 6) a montré que la biopréservation n'a pas d'effet significatif sur les teneurs en fer libre. Cependant, le stockage et le traitement par hautes pressions ont un effet significatif et une interaction significative entre ces deux paramètres est également observée. Cette augmentation du fer libre dans les échantillons traités par hautes pressions, et au cours du stockage réfrigéré pourrait être due à l'ouverture du noyau porphyrine de la myoglobine avec la pression. Ces résultats sont

similaires à ceux d'une étude menée sur de la viande de chèvre traitée par hautes pressions, qui ont montré une augmentation de la teneur en fer libre non héminique pendant le stockage (Jalarama Reddy *et al.*, 2015).

L'augmentation des teneurs en TBARS et MDA semble donc être corrélée avec l'augmentation de la teneur en fer libre. En effet, dans les échantillons pressurisés (500 MPa et 500 MPa-BLc), une augmentation de la teneur en TBARS et MDA est observée à J+7 en même temps que l'augmentation de la teneur en fer libre. Par contre, dans les échantillons non traités par hautes pressions (0,1 MPa et 0,1 MPa-BLc), la teneur en TBARS et MDA reste stable au cours de stockage de même que la teneur en fer libre. Ainsi, dans cette étude, l'oxydation lipidique serait causée par le relargage de fer induit par la pression.

III.1.3. Peroxydation stimulée des lipides du jambon cuit

Une peroxydation stimulée a été entreprise sur les différents échantillons de jambon cuit. Elle consiste à provoquer et stimuler l'oxydation à l'aide d'un catalyseur qui est le sulfate de fer et d'une température de 37 °C. L'oxydation des lipides a ensuite été suivie pendant 300 min en dosant les TBARS à différents temps d'incubation (0, 60, 120, 200 et 300 min). Ceci a permis d'évaluer l'effet des différents traitements sur la stabilité oxydative des lipides du jambon cuit dans un milieu prooxydant. Les courbes obtenues à J+1 et J+7 de stockage réfrigéré sont présentées sur la figure 48 et celles obtenues à J+14 et J+21 sur la figure 49.

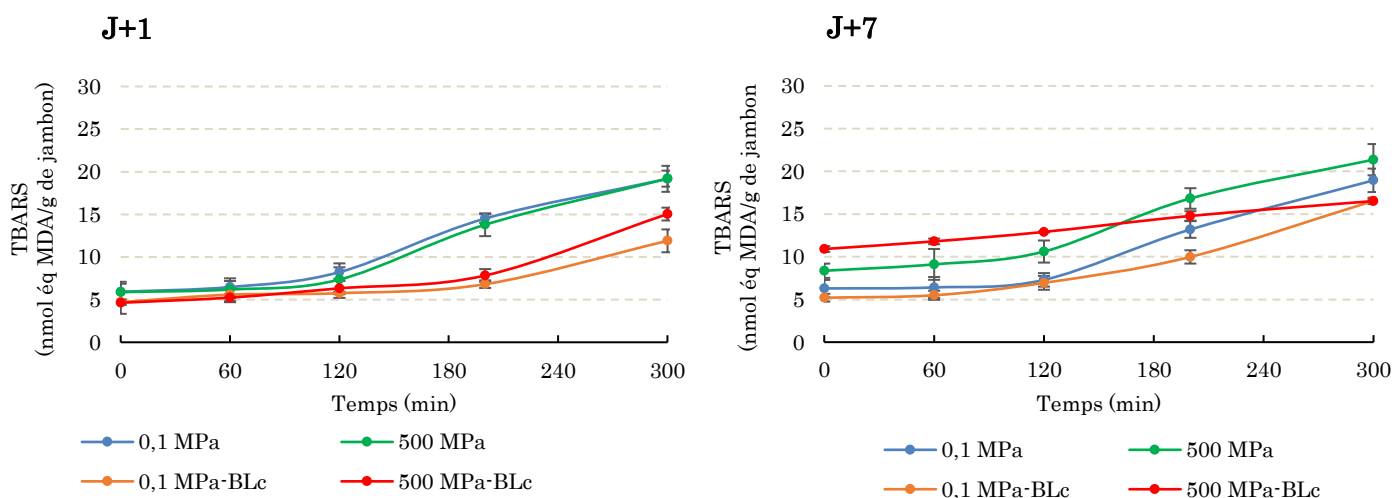
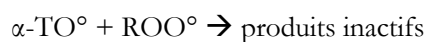
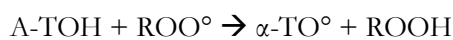


Figure 48 : Teneur en TBARS (en nmol éq MDA/g de jambon) du jambon cuit pressurisé, biopréservé et biopréservé puis pressurisé au cours de la peroxydation stimulée à J+1 et J+7 de stockage réfrigéré (n=6)

À J+1, la teneur en TBARS au début de l'incubation (0 min) est similaire pour tous les échantillons (environ 5 nmol équivalent MDA/g de jambon). Au cours de l'incubation, la teneur en TBARS reste constante jusqu'à 120 min pour les échantillons non biopréservés tandis qu'elle reste constante jusqu'à 200 min pour ceux biopréservés. Un temps de « latence » est donc observé durant la peroxydation stimulée, qui est plus long dans les échantillons biopréservés. À 300 min d'incubation, le jambon cuit biopréservé (0,1 MPa-BLc) présente la teneur en TBARS la plus basse ($11,90 \pm 1,34$ nmol éq MDA/g de jambon), suivi du jambon cuit

biopréservé puis pressurisé (500 MPa-BLc : $15,03 \pm 0,75$ nmol éq MDA/g de jambon) puis du jambon cuit témoin et du jambon cuit pressurisé dont les teneurs en TBARS sont similaires (environ 19 nmol éq MDA/g de jambon). Cette phase de latence pourrait être due à l'activité antioxydante des nitrites résiduels. L'activité antioxydante du nitrite est souvent attribuée au potentiel de l'oxyde nitrique (NO) à se lier au fer hémique et à le stabiliser. Aussi, l'oxygène et d'autres espèces réactives de l'oxygène réagissent rapidement avec l'oxyde nitrique et sont séquestrés (Honikel, 2008). En outre, le NO peut également se lier au fer libre (Bergamaschi & Pizza, 2011), ce qui peut réduire l'oxydation des lipides en limitant l'activité prooxydante du fer (Parthasarathy & Bryan, 2012). La phase de latence pourrait également être due à la présence de composés antioxydants endogènes tels que le tocophérol. L' α -tocophérol est la forme la plus importante de la vitamine E, et c'est sur lui que se base les apports nutritionnels recommandés en vitamine E. D'après la table Ciqual, la teneur en vitamine E du jambon cuit supérieur est d'environ 2,5 mg/kg.

La vitamine E est également un antioxydant primaire piègeur de radicaux libres qui agit principalement sur les radicaux peroxydes (ROO°) et inhibe l'étape de propagation de l'oxydation lipidique. En effet, l' α -Tocopherol (α -TOH) court-circuite le cycle de propagation et peut intercepter le radical peroxyde (ROO°) plus rapidement que les acides gras polyinsaturés. L' α -TOH donne son atome d'hydrogène phénolique au radical et le convertit en hydroperoxyde. Le radical tocopheroxyl (α -TO $^\circ$) formé est suffisamment stable pour ne pas continuer la chaîne. Il est retiré du cycle par réaction avec un autre radical peroxyde pour former des produits inactifs non radicalaires (Burton, 1990).



À J+7, la teneur en TBARS du jambon cuit biopréservé puis pressurisé est beaucoup plus élevée que celle des autres échantillons au début de l'oxydation. Le temps de latence jusqu'à 120 min est toujours observé dans les échantillons non biopréservés, tandis que dans le jambon cuit biopréservé, il a été réduit à 120 min au lieu de 200 min. Quant au jambon cuit biopréservé puis pressurisé, le temps de latence n'est plus observé donnant ainsi une allure de courbe linéaire ascendante. De plus on peut également observer que la courbe du jambon cuit pressurisé est nettement au-dessus de celle du jambon cuit témoin, alors qu'à J+1 aucune différence n'a été observée entre ces deux échantillons. Ceci témoigne de l'effet de la pression sur l'oxydation des lipides. À la fin de l'incubation, la teneur en TBARS des jambons cuits biopréservés (pressurisés ou non) est inférieure à celle des jambons cuits non biopréservés (pressurisés ou non). Ainsi, le traitement combiné a accéléré l'oxydation des lipides mais le niveau d'oxydation reste le même que celui de l'échantillon non pressurisé à la fin de l'incubation.

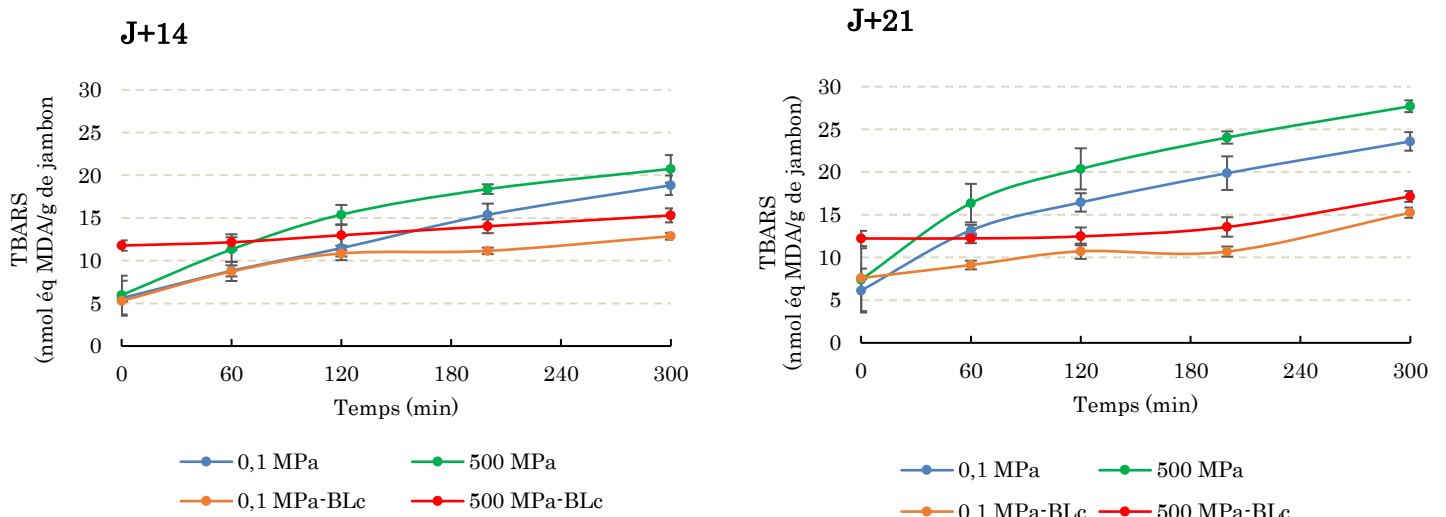


Figure 49 : Teneur en TBARS (en nmol éq MDA/g de jambon) du jambon cuit pressurisé, biopréservé et biopréservé puis pressurisé au cours de la peroxydation stimulée à J+14 et J+21 de stockage réfrigéré (n=6)

À J+14 et J+21, l'allure des courbes a changé pour tous les échantillons. La phase de latence n'est plus observée. En protégeant les lipides contre l'oxydation survenue au cours du stockage, la vitamine E et le NO seraient finalement consommés, ce qui conduit à une accélération de la vitesse d'oxydation des lipides. Au début de l'incubation, le jambon cuit biopréservé puis pressurisé présente la teneur en TBARS la plus élevée, aussi bien à J+14 qu'à J+21 (et à J+7). Ceci est cohérent avec les résultats de dosage de MDA et TBARS vue précédemment où il a été constaté que le traitement combiné augmentait considérablement l'oxydation des lipides.

Cependant, la teneur en TBARS des échantillons biopréservés varie peu au cours de l'oxydation forcée alors qu'une augmentation significative est observée dans les échantillons non biopréservés. De plus, à la fin de l'incubation, les échantillons biopréservés présentent des teneurs en TBARS plus faibles que les échantillons non biopréservés (0,1 MPa-BLc < 500 MPa-BLc < 0,1 MPa < 500 MPa). Ainsi, la biopréservation permettrait la protection des lipides lors de l'oxydation forcée.

Des études ont montré que les bactéries lactiques possédaient des activités antioxydantes qui ont été démontrées lors de leur utilisation dans la fabrication de saucisses fermentées par exemple (Zhang *et al.*, 2017b ; Chen *et al.*, 2017 ; Noonpakdee *et al.*, 2004). L'activité antioxydante des bactéries lactiques est liée à leur capacité à piéger des radicaux libres tels que le radical libre 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH[°]), OH[°] et O₂[°] (Chen *et al.* 2015).

Concernant plus particulièrement *L. lactis*, aucune donnée concernant son activité antioxydante dans la viande et les produits carnés n'a été trouvée. Cependant, des études *in vitro* ont montré que différentes espèces de *L. lactis* sont susceptibles de produire des exopolysaccharides, qui possèdent une activité antioxydante (Guo *et al.*, 2013 ; Pan & Mei, 2010). Les exopolysaccharides microbiens (EPS) sont des glycopolymères présents à la surface des bactéries, qui peuvent soit être liés de manière covalente à la surface bactérienne formant une capsule, soit être sécrétés dans l'environnement sous forme de dépôt visqueux (slime).

III.1.4. Conclusion sur l'effet des traitements sur l'oxydation des lipides

Le dosage des teneurs en TBARS et en MDA dans les différents échantillons de jambon cuit a permis d'identifier les effets de chaque traitement (biopréservation, hautes pressions et traitement combiné) sur l'oxydation des lipides. De plus, le suivi de l'oxydation durant 21 jours de stockage a permis d'évaluer l'évolution de cette oxydation lipidique au cours du stockage réfrigéré. L'effet des traitements sur le fer libre non héminique a également été évalué au cours du stockage.

Il a donc été montré que les hautes pressions n'induisaient pas une oxydation des lipides immédiatement après traitement mais au cours du stockage réfrigéré. Cette augmentation de l'oxydation des lipides du jambon cuit pressurisé serait due au relargage de fer dans le milieu par la pression. En effet, il a été généralement admis que le fer, sous une forme ou une autre (héminique ou libre), favorise l'oxydation des lipides de la viande. Dans cette étude, l'oxydation des lipides serait surtout liée au fer libre. Parmi les différentes formes de fer, il a été montré que le fer non héminique jouait un rôle considérable dans l'oxydation des lipides. Différentes études ont montré que l'ajout de fer sous forme de sels simples (sulfate de fer, sulfate d'ammonium ferreux, chlorure ferrique) à un modèle de viande cuite agissait comme un agent prooxydant de l'oxydation lipidique (Love & Pearson, 1974 ; Igene *et al.*, 1979 ; Min *et al.*, 2010). Cependant, l'intervention du fer héminique dans l'oxydation ne peut pas être négligée. En effet, d'autres auteurs (Rhee & Ziprin, 1987 ; Orlin, 2000 ; Vieira *et al.*, 2017) ont comparé les effets de l'hémoglobine et du fer non héminique sur l'oxydation lipidique dans différents types de viande et ont conclu que le pigment héminique induit une accumulation importante de substances réactives au TBA par rapport au fer non héminique. Ainsi, les contributions relatives du fer héminique et non héminique à l'oxydation des lipides dans la viande et les produits carnés sont encore largement débattus.

La biopréservation n'a pas d'effet sur l'oxydation des lipides cependant lorsqu'elle est combinée aux hautes pressions, une forte augmentation de l'oxydation des lipides est observée. Ceci serait dû au relargage d'enzymes lipolytiques par les bactéries lactiques sous pression, qui conduit à une importante accumulation d'acides gras libres dans le milieu. Ces acides gras libres seraient ensuite les cibles des différentes espèces prooxydantes dans le milieu et notamment le fer qui est relargué par la pression.

La peroxydation stimulée des lipides a montré que jusqu'à J+7, la vitesse d'oxydation des lipides serait ralentie par la présence de composés antioxydants endogènes (probablement l' α -tocophérol) et de nitrite résiduel. Cependant, à partir de J+14, la vitesse d'oxydation augmente, ce qui pourrait être dû au fait que les composés cités précédemment sont complètement consommés au cours du stockage. Aussi, lorsque l'oxydation des lipides est forcée, les jambons cuits biopréservés présentent une meilleure stabilité par rapport aux jambons non biopréservés. Ceci serait lié aux activités antioxydantes de certaines bactéries lactiques comme la production d'exopolysaccharide antioxydant chez *L. lactis*. Ainsi, l'ajout de bactéries bioprotectrices permettrait une meilleure stabilité oxydative des lipides du jambon cuit dans un environnement prooxydant.

III.2. Effet des hautes pressions et de la biopréservation sur les protéines du jambon cuit

III.2.1. Solubilité des protéines

a. Effet du procédé sur la solubilité des protéines

La solubilité des protéines est généralement définie comme la quantité de protéines restant dans une solution de caractéristiques définies après l'application d'une force centrifuge pendant une durée déterminée (Hultin, Feng & Stanley, 1995). Les variations de la solubilité des protéines musculaires peuvent donner une appréciation de la dénaturation des protéines. La solubilité décrit la capacité d'un soluté donné à se dissoudre dans un solvant. La solubilité des protéines est assurée par des interactions non covalentes (c'est-à-dire électrostatiques et hydrophobes). A l'état natif, les chaînes polypeptidiques des protéines se replient en une conformation globulaire unique. Les groupes apolaires ou hydrophobes enfouis à l'intérieur de la structure stabilisent généralement l'état natif et les résidus hydrophiles sur la surface participent à la liaison hydrogène. Une interaction hydrophobe limitée et une plus grande répulsion électrostatique entre les protéines améliorent la solubilité et la dispersibilité (Aryee, Agyei & Udenigwe, 2018). Cependant, lorsque les protéines se déploient / sont dénaturées, de nombreux motifs peptidiques et chaînes latérales d'acides aminés enfouis sont exposés à la surface de la protéine où ils interagissent avec le solvant. La dominance de forces attractives conduit ainsi à une association des protéines (formation d'agrégat ou de précipité) et à une perte de solubilité (Fischer *et al.*, 1979). Les variations de la solubilité des protéines (0,6 M, pH 6) au cours de la fabrication du jambon cuit biopréservé puis pressurisé sont présentées sur la figure 50.

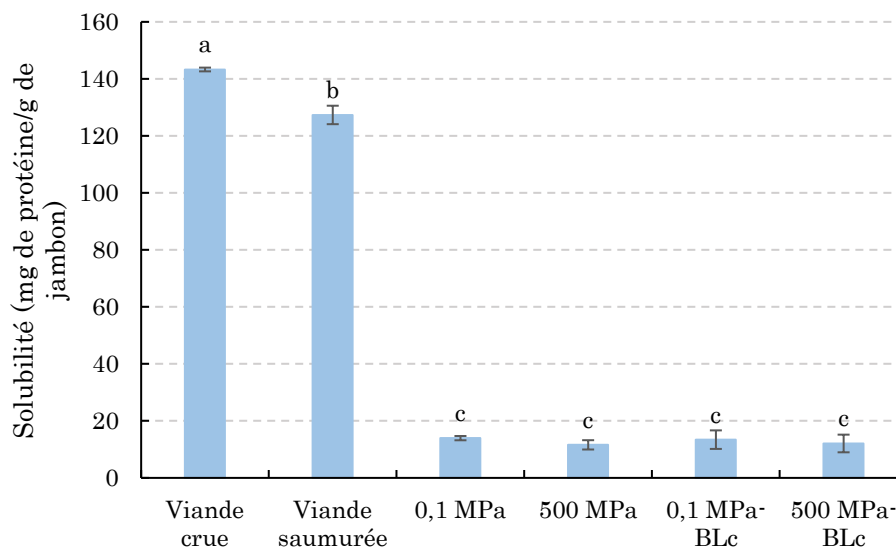


Figure 50 : Effet du procédé sur la solubilité des protéines (en mg de protéine/g de jambon ; moyenne \pm intervalle de confiance) du jambon cuit. Les lettres différentes indiquent des différences significatives ($n=3$)

La solubilité des protéines de la viande crue est de $143 \pm 0,66$ mg / g, ce qui représente 60 % des protéines totales. La solubilité diminue à $127 \pm 3,24$ mg / g pour celle de la viande saumurée, soit une diminution significative de 11% de la solubilité des protéines après le saumurage. La cuisson diminue considérablement

la solubilité des protéines ($p < 0,05$). Une diminution de 90% de la solubilité est observée entre la viande saumurée ($127 \pm 3,24$ mg / g) et le jambon cuit ($14 \pm 0,75$ mg / g). Le traitement par hautes pressions ainsi que la biopréservation et le traitement combiné, n'ont pas d'effet significatif sur la solubilité des protéines de jambon cuit.

L'effet combiné de la saumure et du malaxage provoque un déploiement partiel de la structure native des protéines et conduit ainsi à un réarrangement des protéines myofibrillaires (Núñez-Flores *et al.*, 2018 ; Wang *et al.*, 2016). Dans un milieu à forte concentration en électrolytes, la plupart des protéines sont dénaturées (Xiong, 2018 ; Von Hippel & Wong, 1965). Les régions hydrophobes se tournent ensuite vers l'extérieur de la molécule tandis que les régions hydrophiles se rassemblent au centre, ce qui rend les protéines moins solubles et susceptibles de précipiter. Ceci conduit donc à la diminution de la solubilité après saumurage et malaxage.

La structure native d'une molécule de protéine est maintenue par des forces moléculaires internes qui, dans la plupart des cas, sont déstabilisées par l'augmentation de la température, ce qui entraîne une « dénaturation thermique » qui survient à une certaine température. La chaîne d'acides aminés se déploie et des parties internes de la molécule précédemment native sont exposées à la surface de la molécule, ce qui modifie son affinité avec d'autres molécules. La fabrication du jambon cuit passe par une étape de cuisson par paliers (40 °C pendant 60 minutes, 50 °C pendant 60 minutes et 65 °C pendant 150 minutes). Pendant cette étape, les protéines myofibrillaires solubilisées pendant le saumurage et le malaxage subissent un processus de réarrangement irréversible impliquant une dénaturation et une agrégation de la myosine (Gravelle *et al.*, 2016 ; Tornerg, 2005). Ces changements entraînent une diminution drastique de la solubilité des protéines après la cuisson. Ces résultats sont en accord avec une étude précédente rapportant une diminution de la solubilité des protéines myofibrillaires de viande de poulet traitées de 30 °C à 80 °C (Chen *et al.*, 2018). De plus, lors de la cuisson, des phénomènes d'oxydation peuvent apparaître. En effet, l'oxydation des acides aminés conduit à la formation de groupements carbonylés et la réaction ultérieure des carbonyles avec des groupes amines libres peut induire des liaisons entre protéines et conduit à la formation d'agrégats insolubles (Promeyrat *et al.*, 2010a).

Par ailleurs, la solubilité des protéines reste constante après pression, biopréservation et après le traitement combiné. Ainsi, après la cuisson, les protéines semblent atteindre un seuil de solubilité probablement dû à une forte dénaturation.

b. Evolution de la solubilité des protéines au cours du stockage

L'évolution de la solubilité des protéines au cours du stockage réfrigéré est présentée sur la figure 51.

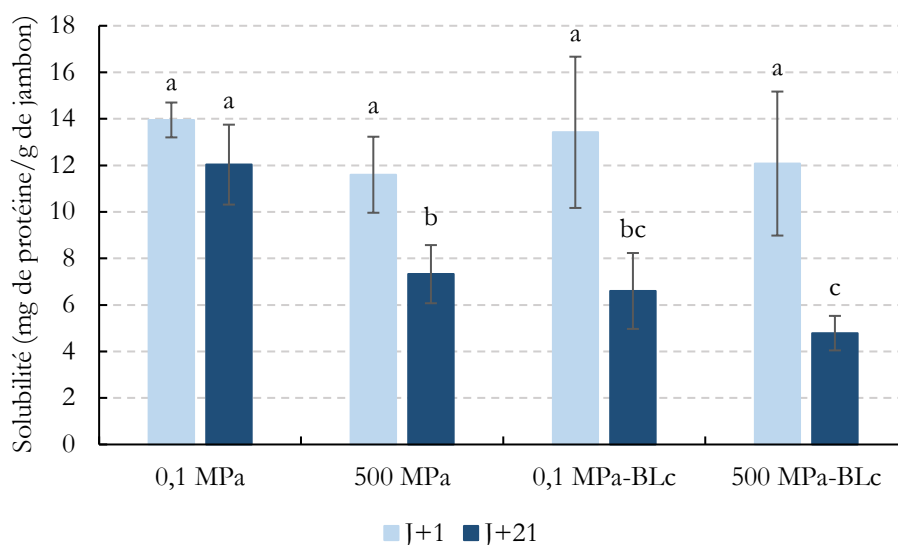


Figure 51 : Évolution de la solubilité des protéines (en mg de protéine/g de jambon) du jambon cuit témoin, pressurisé, biopréservé, biopréservé puis pressurisé au cours du stockage réfrigéré. Les barres représentent l'intervalle de confiance de la moyenne et les lettres différentes indiquent des différences significatives ($n=3$)

À J+21, la solubilité du jambon cuit témoin (0,1 MPa) ne présente pas de différence significative avec la solubilité à J+1. Cependant, une diminution de la solubilité est observée chez le jambon cuit pressurisé (diminution de 37 % par rapport à J+1), biopréservé (diminution de 51 % par rapport à J+1) et biopréservé puis pressurisé (diminution de 60 % par rapport à J+1). Cette diminution de la solubilité signifierait qu'une dénaturation plus poussée se serait opérée au cours du stockage réfrigéré.

III.2.2. Effet sur la dénaturation des protéines

a. Effet du procédé sur l'enthalpie de dénaturation totale

La figure 52 montre l'évolution de l'enthalpie de dénaturation totale des protéines lors de la fabrication du jambon cuit (à J+1). L'enthalpie de dénaturation totale ΔH de la viande diminue au cours de la fabrication du jambon cuit. La réduction de ΔH est liée au changement de structure qui mène à la dénaturation des protéines.

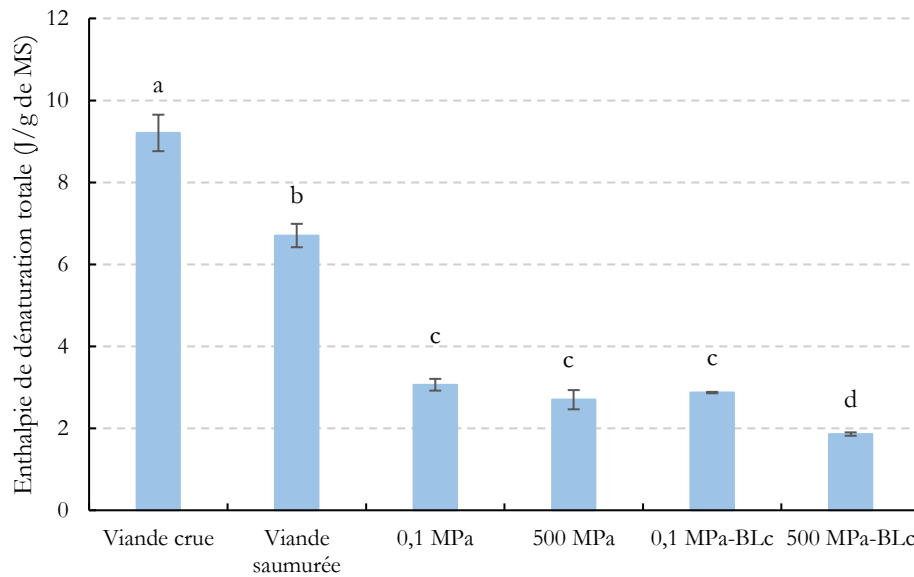


Figure 52 : Effet du procédé sur l'enthalpie de dénaturation totale du jambon cuit supérieur. Les barres représentent l'intervalle de confiance de la moyenne et les lettres différentes indiquent des différences significatives (n=3)

L'enthalpie de dénaturation totale de la viande saumurée est nettement inférieure à celle de la viande crue (inférieure de 27 %), ce qui signifie que l'ajout de saumure diminue considérablement l'enthalpie totale de dénaturation de la viande. Ce résultat correspond aux résultats de Villamonte *et al.* (2013) sur de la mèche de porc à laquelle a été ajouté du chlorure de sodium, et à ceux de Pighin *et al.* (2008) sur l'effet de l'ajout de sel sur des protéines de bœuf. Ces auteurs suggèrent que le sel a un effet important sur la diminution de la stabilité thermique des protéines. Pour étayer ce fait, il a été suggéré que l'addition de sel neutre amène les anions à concurrencer les molécules d'eau pour des sites spécifiques dans les protéines, ce qui modifie les propriétés d'hydratation des protéines et, par conséquent, diminue les énergies de dénaturation. L'action simultanée du saumurage et du malaxage entraîne un dépliement partiel des protéines natives et le début de la dénaturation de ces protéines, ce qui explique la diminution de l'enthalpie de dénaturation totale de la viande saumurée.

L'enthalpie de dénaturation totale diminue considérablement après la cuisson (diminution de 82 % par rapport à la viande saumurée). En effet, le traitement thermique induit un changement de conformation des protéines. Ainsi, les protéines perdent leur structure hélicoïdale. Le traitement par hautes pressions ainsi que la biopréservation n'ont pas d'effet significatif sur le jambon cuit ($p > 0,05$). Cependant, une diminution de l'enthalpie de dénaturation totale importante est observée après application du traitement combiné (diminution de 40 % par rapport au jambon cuit).

b. Evolution de l'enthalpie de dénaturation totale au cours du stockage

L'évolution de l'enthalpie de dénaturation totale au cours du stockage réfrigéré est présentée sur la figure 53.

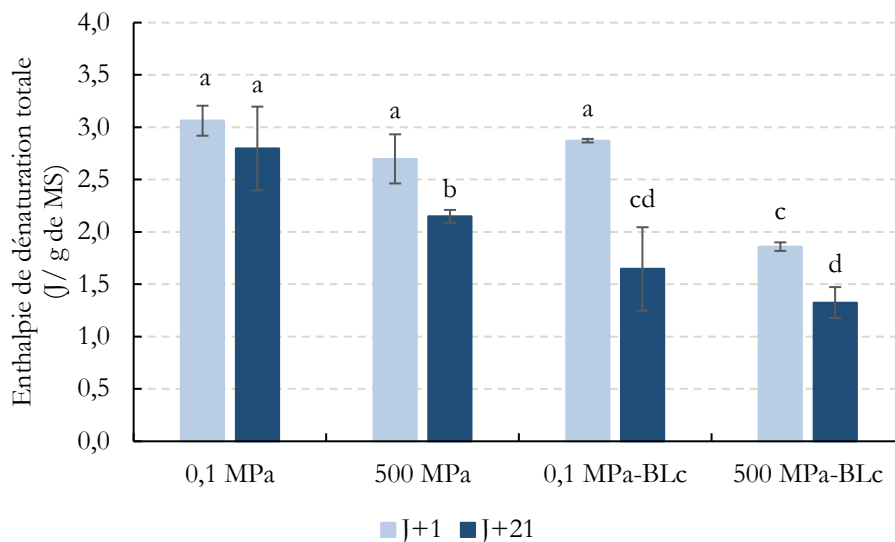


Figure 53 : Evolution de l'enthalpie de dénaturation totale (en J/g de MS) du jambon cuit témoin, pressurisé, biopréservé et biopréservé puis pressurisé au cours du stockage réfrigéré. Les barres représentent l'intervalle de confiance de la moyenne et les lettres différentes indiquent des différences significatives (n=3)

L'enthalpie de dénaturation du jambon cuit témoin reste stable au cours du stockage. Cependant, entre J+1 et J+21, une diminution de l'enthalpie de dénaturation totale est observée pour le jambon cuit pressurisé (diminution de 26 %), pour le jambon cuit biopréservé (diminution de 75 %) et pour le jambon cuit biopréservé puis pressurisé (diminution de 40 %) : pour ces produits, le temps de stockage induit une dénaturation supplémentaire des protéines. Les bactéries bioprotectrices semblent également induire une dénaturation supplémentaire au cours du stockage.

c. Effet du procédé sur la température de dénaturation des protéines

Les thermogrammes de la viande crue, du jambon cuit et du jambon pressurisé à J+1 sont présentés sur la figure 54.

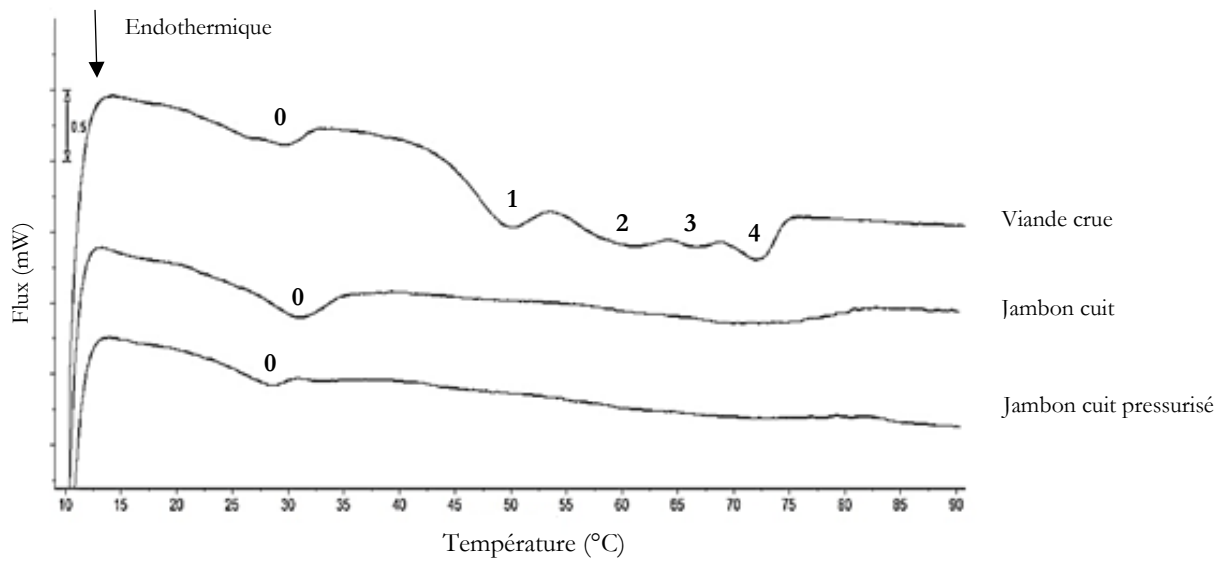


Figure 54 : Thermogramme de dénaturation de la viande crue, du jambon cuit et du jambon cuit pressurisé

Le thermogramme de la viande crue montre cinq zones de transition qui ont été identifiées grâce à la température au sommet du pic.

Le composant 0, avec un pic à environ $30 \pm 3,7$ °C, correspond à la fusion des lipides contenus dans l'échantillon. Cette constatation a été confirmée en appliquant la même cinétique de température aux lipides extraits de viande de porc. Le thermogramme obtenu a montré le même pic à environ 30 °C. Pendant la baisse de température (non montrée), un pic exothermique est observé à environ 20 °C, ce qui correspond à la cristallisation des lipides. En effet, la fusion des lipides est un phénomène réversible contrairement à la dénaturation des protéines (Barreto *et al.*, 1996 ; Fernández-Martín *et al.*, 1997).

L'identification des pics de dénaturation de la viande de porc crue et saumurée a été réalisée selon Villamonte *et al.* (2013). La première transition thermique (composant 1), avec une Td à $51,89 \pm 1,19$ °C, correspond aux protéines myofibrillaires (principalement la myosine). Le composant 2, avec une Td à $58,20 \pm 1,97$ °C, a été attribué au collagène et aux protéines sarcoplasmiques, qui sont dénaturés dans le même intervalle de température. La transition thermique à $67,09 \pm 0,23$ °C (composant 4) a été attribuée à d'autres formes de myosine. Plusieurs auteurs ont rapporté que cette protéine pouvait présenter plusieurs domaines de transition qui correspondent aux chaînes lourdes, légères et leurs sous-unités (Chapleau *et al.*, 2004 ; Xiong *et al.*, 1987). Enfin, le composant 5, à $72,66 \pm 1,67$ °C, a été identifié comme étant la transition thermique de l'actine. Le thermogramme de la viande saumurée a un profil identique à celui de la viande crue (données non présentées). Par conséquent, dans cette étude, le saumurage n'a pas d'effet sur les températures de dénaturation des protéines de la viande crue, mais il a eu un impact sur l'enthalpie de dénaturation totale.

Après la cuisson, on observe un large pic oscillant entre 60 °C et 72 °C. Le même pic est retrouvé après le traitement par hautes pressions, la biopréservation et le traitement combiné. Il a été difficile d'identifier avec certitude la température de dénaturation de ce pic, car l'enthalpie de dénaturation est très faible. Une déconvolution des pics a donc été effectuée pour une meilleure identification. Les différentes températures de dénaturation obtenues sont présentées dans le tableau 21.

Tableau 21 : Effet du procédé et du stockage sur les pics de dénaturation des protéines du jambon cuit

		Pic 1	Pic 2	Pic 3	Pic 4
Viande crue		51,89±1,19 ^a	58,20±1,97 ^{bd}	67,09±0,23 ^f	72,66±1,67 ^h
Viande saumurée		50,64±1,27 ^a	60,17±1,25 ^b	67,29±0,74 ^g	72,18±0,28 ^h
0,1 MPa	J+1	49,20±0,78 ^a	60,30±1,36 ^{bc}	—	71,85±0,49 ^h
	J+21	—	61,12±0,11 ^{bc}	—	72,68±1,30 ^h
500 MPa	J+1	—	61,74±3,07 ^{bce}	—	72,55±2,62 ^h
	J+21	—	57,46±0,78 ^d	—	—
0,1 MPa- BLc	J+1	—	60,78±2,43 ^{bce}	—	71,71±0,46 ^h
	J+21	—	60,30±0,94 ^{bc}	—	72,33±0,92 ^h
500 MPa- BLc	J+1	—	61,95±0,08 ^e	—	—
	J+21	—	57,33±0,20 ^d	—	—

Après cuisson (0,1 MPa – J+1), on observe une disparition complète du pic 3 qui correspond à différents domaines de la myosine. Cependant, les pics 1, 2 et 4 correspondants respectivement à la myosine, au collagène et protéines sarcoplasmiques et à l'actine sont encore identifiables après cuisson. Le collagène est la principale protéine du tissu conjonctif présente dans les viandes. Sa température de dénaturation totale peut atteindre 90 °C. Entre autres, dans la majorité des systèmes musculaires, l'actine est le plus stable à la chaleur et ne commence à se dénaturer qu'à partir de 71 °C, la dénaturation étant complète dans la plupart des cas à 83 °C (Brunton *et al.*, 2006). La cuisson du jambon cuit dans cette étude ne dépasse pas 65 °C à cœur. Il est donc plausible de retrouver les pics correspondants au collagène et à l'actine après cuisson. Une augmentation non significative de la température de dénaturation du pic 2 est observée après saumurage et maintenue après cuisson. Cette augmentation pourrait être liée aux changements qui s'opèrent au sein du collagène au cours du saumurage. En effet, le sel entraîne un gonflement des fibres de collagène par la pénétration des molécules d'eau et des ions chlorure, ce qui favorise les interactions hydrophobes au sein de la structure et augmente la température de dénaturation du collagène (Aktas, 2003). Cette augmentation

de la température de dénaturation du collagène avec l'ajout de sel a également été observée par Villamonte *et al.* (2013). À J+21, le jambon cuit témoin ne présente plus que deux pics de dénaturation car le pic 1 correspondant à la myosine n'est plus observé. Le stockage aurait donc entraîné une dénaturation complète de la myosine du jambon cuit témoin.

Généralement, l'application des hautes pressions sur un produit cuit n'a pas d'effet sur la dénaturation des protéines, car la cuisson a déjà provoqué une dénaturation substantielle des protéines. Dans cette étude, les hautes pressions n'induisent pas de changement de l'enthalpie de dénaturation totale. Cependant, des changements au niveau des pics de dénaturation ont pu être observés. En effet, après traitement par hautes pressions (500 MPa – J+1), une dénaturation complète du pic de la myosine (pic 1) est constatée. Les protéines myofibrillaires sont globalement sensibles aux hautes pressions et sont affectées par un traitement à 500 MPa (Chapleau *et al.*, 2004). Ainsi, la myosine non dénaturée lors de la cuisson est dénaturée par le traitement par hautes pressions. Cependant, l'actine est stable après pression. En effet, la dénaturation de l'actine varie beaucoup avec la pression et le temps de traitement, et les résultats sont parfois contradictoires. Chapleau *et al.* (2004) ont observé que l'actine était stable après un traitement à 600 MPa pendant 10 min tandis que Zhang *et al.* (2017) ont constaté une dénaturation complète de l'actine après un traitement à 400 MPa pendant 10 min. A J+21, la dénaturation des protéines du jambon cuit pressurisé semble encore plus poussée puisqu'une dénaturation complète de l'actine est observée. Le collagène et les protéines sarcoplasmiques ne sont pas affectés par le traitement par hautes pressions et le stockage. En effet, à J+21, seul le pic correspondant à ces fractions est encore observé. Le collagène est connu pour être stable sous hautes pressions (Sikes *et al.*, 2009). Il a été démontré que le collagène est stabilisé par un traitement par hautes pressions en raison de sa structure qui est principalement stabilisée par des liaisons hydrogène (Gekko & Koga, 1983).

Cependant, le pic de dénaturation de ces fractions est légèrement décalé à J+21. La température de dénaturation diminue significativement entre J+1 ($61,74 \pm 3,07$ °C) et J+21 ($57,46 \pm 0,78$ °C), une diminution qui n'est pas observée sur le jambon témoin. Un effet déstabilisateur de la pression sur l'interaction sel-collagène se serait donc manifesté au cours du stockage. Villamonte *et al.* (2013) ont également constaté une diminution du pic relatif au collagène et protéines sarcoplasmiques de mèche de porc immédiatement après pression à 350 MPa. Toutefois, dans l'étude mentionnée, la viande utilisée est crue ce qui pourrait expliquer l'effet immédiat de la pression puisque la dénaturation de la matrice de départ est relativement faible ; contrairement à notre étude où la matrice utilisée est cuite donc la dénaturation est déjà beaucoup plus poussée, ce qui expliquerait l'apparition de l'effet pression au cours du stockage.

La biopréservation entraîne également la dénaturation complète de la myosine (0,1 MPa-BLc - J+1). Seuls les pics correspondants au collagène, aux protéines sarcoplasmiques et à l'actine sont observés. Cependant, à J+21, le profil thermique reste similaire à celui de J+1. Le stockage a donc un effet sur l'enthalpie de dénaturation totale des protéines du jambon cuit biopréservé (diminution de 75 % par rapport à J+1) mais les fractions protéiques restent stables face aux bactéries bioprotectrices.

Le traitement combiné biopréservation-hautes pressions a conduit à une dénaturation totale de toutes les fractions protéiques à part le collagène et les protéines sarcoplasmiques. En effet, à J+1 et J+21, seul le pic correspondant à ces fractions est observé. Le stockage n'induit donc pas d'effet supplémentaire sur la dénaturation des protéines du jambon cuit biopréservé puis pressurisé. Cependant, le décalage du pic vers une température plus basse, comme observé sur le jambon cuit pressurisé, a été constaté. Ceci confirmerait l'effet de la pression sur ces fractions protéiques et cela même en présence de bactéries bioprotectrices.

III.2.3. Profil électrophorétique des protéines

Les protéines du jambon cuit ont été solubilisées directement dans un tampon de dénaturation tris-HCl en présence de SDS et de β -mercaptoéthanol, afin de pouvoir établir leur profil électrophorétique. Le profil électrophorétique des protéines permet de connaître les changements qui peuvent survenir sur le profil des protéines au cours de la fabrication du jambon cuit (Figure 55). L'analyse électrophorétique a été réalisée sur les extraits de protéines totales sans normalisation. La diminution drastique de la solubilité des protéines au cours de la fabrication du jambon cuit n'a pas permis la normalisation de la concentration des protéines. Toutefois, une évaluation globale des protéines extraites peut être effectuée. La présence de bande colorée dans les puits témoigne de la présence d'agrégats protéiques qui ne sont pas entrés dans le gel de polyacrylamide à 12 %.

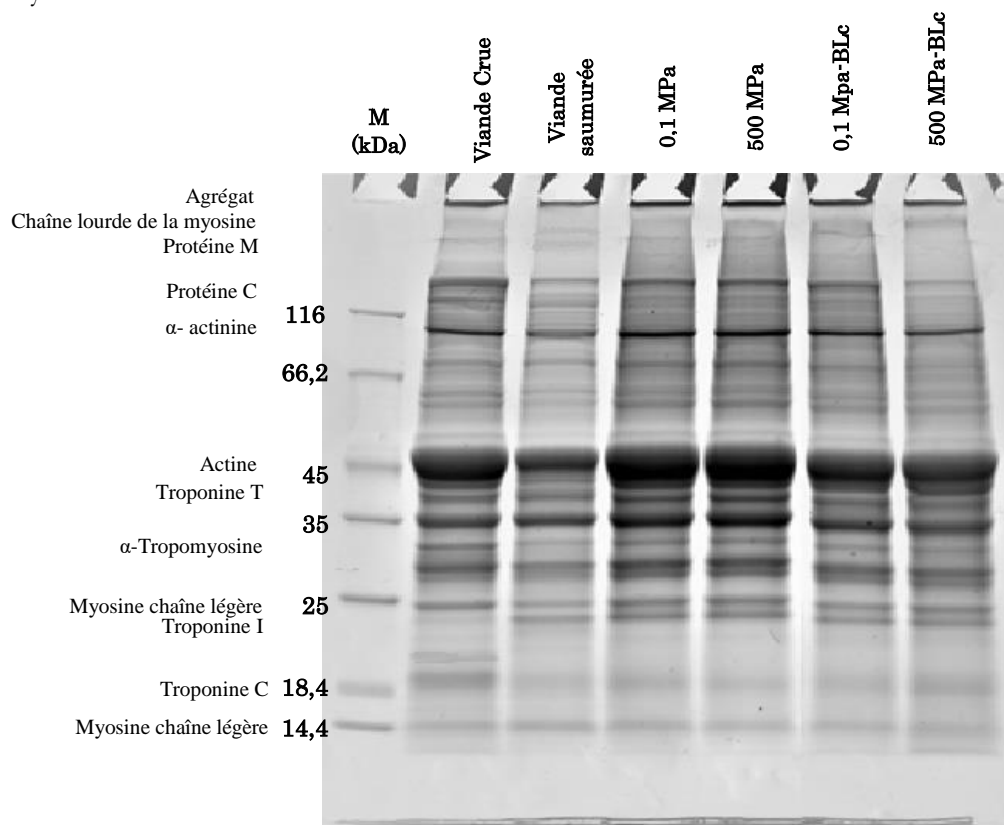


Figure 55 : Profil électrophorétique de la viande au cours de la fabrication du jambon cuit. M : marqueur

Les principales bandes identifiées dans la viande crue sont la chaîne lourde de la myosine (200 kDa), la protéine C (135 kDa), la protéine M (165 kDa), la chaîne α -actinine (97 kDa), l'actine (45 kDa), la troponine T (37 kDa), la chaîne de la tropomyosine (34 kDa), la troponine I (23 kDa), la troponine C (19 kDa) et les deux chaînes légères de myosine (14-15 kDa et 24 kDa). Les diminutions ou augmentations d'intensité de bandes sont attribuées à des modifications de la conformation des protéines et donc de la solubilité due à la dénaturation suite à la formation d'agrégat (diminution de la solubilité) ou à la dégradation en composés de poids moléculaire inférieur (augmentation de la solubilité) (Grossi *et al.*, 2014).

L'intensité des bandes de la viande saumurée semble plus faible. Cela est dû à la différence de concentration des protéines injectées. En effet, lors de l'analyse électrophorétique, un même volume d'extrait a été injecté pour tous les échantillons. Cependant, dans la viande saumurée la quantité de protéines est plus faible à cause de l'ajout de la saumure donc l'échantillon est plus dilué. Toutefois, l'intensité des bandes a diminué uniformément ce qui montre que cette diminution de l'intensité est effectivement due à la dilution de l'échantillon et non à un effet du traitement.

L'apparition d'une bande à 24 kDa est observée à partir du saumurage et son intensité augmente au cours de la fabrication. Cette bande correspondrait à la solubilisation de la troponine I après le saumurage. Cependant, l'intensité de la troponine C à 19 Kda décroît au fur et à mesure de la fabrication du jambon. De même, l'intensité des bandes qui correspondent aux protéines M et C décroît au fur et à mesure des différents traitements, jusqu'à disparaître dans le jambon cuit biopréservé puis pressurisé.

III.2.4. Conclusion sur l'état de dénaturation des protéines

Les mesures de solubilité, la calorimétrie et l'analyse électrophorétique ont permis d'évaluer l'état de dénaturation des protéines du jambon cuit au cours de sa fabrication mais également au cours du stockage. Les résultats montrent que la solubilité et l'enthalpie de dénaturation des protéines évoluent dans le même sens. La solubilité des protéines dépend de la structure protéique et des interactions protéine-protéine (Chen, *et al.*, 2018). Ainsi, lorsque la protéine subit un changement dans sa structure, ceci conduit à un changement de sa solubilité.

Le saumurage a entraîné une diminution de la solubilité et de l'enthalpie de dénaturation totale des protéines. L'ajout de sel a donc affecté les propriétés structurales des protéines, car l'addition d'ions diminue les interactions non covalentes requises pour maintenir la structure de la myosine; par conséquent, la stabilité des protéines diminue, tandis que la dénaturation augmente (Comfort & Howell, 2003). Une forte diminution de la solubilité et de l'enthalpie de dénaturation totale est observée après cuisson. Ceci correspond à la formation du gel protéique au cours de la cuisson responsable de l'adhérence des morceaux de viande et donc de la tenue de tranche du jambon cuit. Généralement, le chauffage induit la dénaturation et l'agrégation des protéines natives entraînant une diminution de la solubilité des protéines (Promeyrat *et al.*, 2010a). La biopréservation n'a pas d'effet significatif sur la solubilité et l'enthalpie de dénaturation du

jambon cuit, cependant lorsqu'elle est associée à la pression, une diminution de l'enthalpie de dénaturation est observée.

Les trois fractions protéiques principales de la viande (le collagène, les protéines sarcoplasmiques et les protéines myofibrillaires) sont retrouvées sur le thermogramme obtenu après l'analyse par calorimétrie différentielle. Cependant, ces trois fractions évoluent différemment au cours de la fabrication du jambon cuit et au cours du stockage. Le saumurage, bien qu'augmentant la force ionique du milieu, n'a pas d'effet significatif sur les températures de dénaturation des protéines. Par contre, la cuisson conduit à la disparition du pic de la myosine identifié à environ 67 °C sur la viande crue. La pression induit la dénaturation totale de la myosine avec la disparition du pic à environ 50 °C et qui correspond à une autre partie du domaine de myosine. De même, l'ajout de bactéries bioprotectrices entraîne une dénaturation totale de la myosine du jambon cuit. Enfin, l'application du traitement combiné entraîne la dénaturation complète des protéines myofibrillaires avec la disparition du pic à environ 72 °C correspondant à l'actine. Le collagène et les protéines sarcoplasmiques montrent une résistance aux différents traitements. Toutefois, les domaines de transition de ces fractions protéiques sont conjoints et intermédiaires, ce qui rend difficile l'attribution de cette stabilité au collagène ou aux protéines sarcoplasmiques.

Le stockage présente également un effet sur les températures de dénaturation des différentes fractions protéiques. Ainsi après 21 jours de stockage, une dénaturation complète de la myosine est observée sur le jambon cuit témoin tandis que l'actine reste stable. Par contre, pour le jambon pressurisé, une dénaturation complète des protéines myofibrillaires, myosine et actine, est observée. De plus, un décalage de la température de dénaturation du collagène et des protéines sarcoplasmiques est constaté ce qui signifierait que ces fractions deviendraient moins stables durant le stockage. Le stockage n'induit pas de changements des températures de dénaturation des protéines du jambon cuit biopréservé. Cependant, le décalage du pic du collagène et des protéines sarcoplasmiques est également observé lorsque la biopréservation est combinée à la pression. Ainsi, la pression n'induit pas de changement immédiat de la température de dénaturation du collagène et des protéines sarcoplasmiques, mais son effet est observé au cours du stockage, et cela en présence ou non de bactéries bioprotectrices.

Les différents changements qui s'opèrent au sein des protéines du jambon cuit pendant les différents traitements et au cours du stockage peuvent également être à l'origine des modifications des propriétés technologiques observées dans la partie précédente. De nombreuses études ont montré que la dénaturation des protéines entraînait des modifications structurales dans la viande et affectait ses propriétés physiques telles que sa capacité de rétention d'eau, sa texture et sa couleur (Marcos *et al.*, 2010, Tornberg, 2005). Ainsi, la dénaturation des protéines sous l'influence des différents traitements et au cours du stockage aurait entraîné la diminution de la capacité de rétention d'eau et, par extension, entraîné un relargage d'eau et une modification de la texture.

Les protéines myofibrillaires (la myosine, l'actine, et dans une certaine mesure la tropomyosine) jouent un rôle important dans la qualité des produits carnés en raison de leur capacité à lier les protéines de la viande

et à retenir l'eau (Xiong, 2018). Ainsi, la dénaturation des protéines myofibrillaires serait la principale cause de la diminution de la capacité de rétention d'eau du jambon cuit puisque, quel que soit le traitement appliqué, les protéines myofibrillaires semblent partiellement ou totalement dénaturées au cours du stockage. La dénaturation des protéines myofibrillaires (myosine et actine) est complète dans les échantillons pressurisés (biopréservés ou non). Ceci expliquerait le relargage d'eau plus important dans ces échantillons lors du stockage. Une étude effectuée par Ishiwatari *et al.* (2013) sur de la viande cuite, par calorimétrie et par imagerie par résonance magnétique, a montré que même si la myosine est complètement dénaturée, le relargage d'eau est faible, et aucune modification remarquable de la texture n'est observée. Ainsi, une certaine quantité d'eau reste dans le système myofibrillaire. Cependant, lorsque l'actine est complètement dénaturée, l'eau est expulsée du système de myofibrilles en raison du changement structurel majeur.

L'adhésion des muscles entre eux et par conséquent la cohésion du jambon cuit dépendent de l'état de dénaturation des protéines. Une certaine dénaturation des protéines favorise l'adhésion par intervention des interactions hydrophobes tandis qu'une dénaturation plus importante ou totale entraîne leur agrégation, ce qui ne permet plus l'adhésion et nuit donc à la cohésion du jambon cuit.

III.2.5. Oxydation des protéines

L'oxydation des protéines peut entraîner des modifications du squelette protéique et/ou des chaînes latérales des acides aminés, telles que la dénaturation, le clivage de la liaison peptidique et la formation de nouvelles liaisons covalentes intermoléculaires, affectant ainsi la texture de la viande (Lund *et al.*, 2011). Les principales modifications oxydatives des protéines ont lieu au niveau des chaînes latérales des acides aminés. Elles comprennent l'oxydation des thiols, l'hydroxylation aromatique et la formation de groupements carbonylés (Zhang, Xiao & Ahn, 2013).

Le degré d'oxydation des protéines du jambon cuit au cours de sa fabrication puis après les différents traitements (hautes pressions, biopréservation et traitement combiné) et au cours du stockage, a été évalué en mesurant la perte de groupements sulfhydryles et la formation de composés carbonylés.

a. Teneur en composés carbonylés

Les acides aminés basiques (lysine, histidine et arginine) sont oxydés en composés carbonylés, qui peuvent ensuite réagir avec des groupes amines libres pour former des liaisons amides. La formation de composés carbonylés est l'un des changements les plus importants dans l'oxydation des protéines. Les composés carbonylés peuvent être générés par l'oxydation directe des chaînes latérales d'acides aminés, la fragmentation du squelette peptidique, des réactions avec des sucres réducteurs ou la liaison à des composés carbonylés non protéiques (Estévez, 2011). L'évolution de la quantité de composés carbonylés de la viande durant la fabrication du jambon cuit, ainsi que durant les différents traitements et le stockage est présentée sur la figure 56.

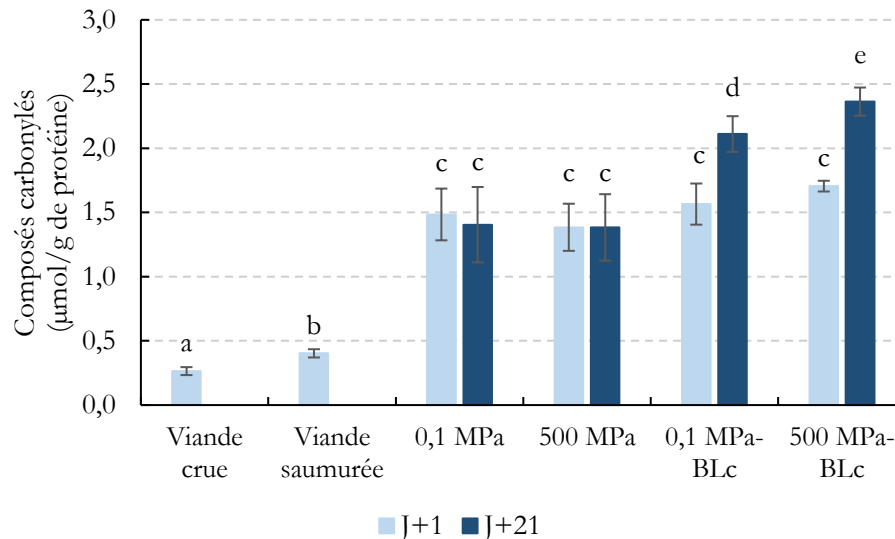


Figure 56 : Effet du procédé et du stockage sur la quantité de composés carbonyles ($\mu\text{mol/g}$ de protéine) du jambon cuit témoin, pressurisé, biopréservé et biopréservé puis pressurisé. Les barres représentent l'intervalle de confiance de la moyenne et les lettres différentes indiquent des différences significatives ($n=3$)

La quantité de composés carbonyles augmente progressivement lors de la fabrication du jambon cuit. La teneur en carbonyles, $0,26 \pm 0,03 \mu\text{mol/g}$ de protéine dans la viande crue, augmente considérablement (34 %) pour atteindre $0,40 \pm 0,03 \mu\text{mol/g}$ de protéine dans la viande saumurée. Le saumurage aurait donc un impact sur la carbonylation des protéines. L'ajout de chlorure de sodium augmente la force ionique de l'environnement. La force ionique est de 0,4 M équivalent NaCl pour la viande de porc crue et passant à 0,9 M équivalent NaCl après saumurage. Cette augmentation de la force ionique affecte le degré d'assemblage des protéines myofibrillaires, leur exposition aux pro-oxydants et, par conséquent, leur sensibilité à la carbonylation (Chen *et al.*, 2018). De plus, le NaCl pourrait améliorer la solubilité des ions Fe^{3+} et/ou des Cl- dérivés du NaCl, renforçant ainsi leurs effets pro-oxydants (Estévez, 2011). Villaverde *et al.*, (2014) et Vossen & De Smet (2015) ont observé un effet pro-oxydant rapide du nitrite sur la carbonylation des protéines dans la mûlée de porc. Le nitrite est un pro-oxydant efficace car il peut initier des réactions d'oxydation en extrayant un électron d'une molécule sensible et en formant des composés azotés réactifs pouvant initier des réactions d'oxydation dans les systèmes carnés.

Après la cuisson, la teneur en carbonyles augmente à $1,48 \pm 0,20 \mu\text{mol/g}$ de protéines, ce qui représente une augmentation de 73 % par rapport à la viande saumurée. L'augmentation de l'oxydation après la cuisson peut être attribuée en partie à la perte de l'activité antioxydante intrinsèque du muscle (Estévez, 2011). De plus, la cuisson conduit à la dénaturation de la myoglobine et conduirait à la libération de fer de l'hème (Garcia *et al.*, 1996). Le fer libéré est connu pour favoriser la formation de radicaux libres impliqués dans l'oxydation des lipides et des protéines (Guyon *et al.*, 2018). Les hautes pressions n'ont pas d'effet immédiat (J+1) sur la teneur en composés carbonyles, et de même pour la biopréservation et le traitement combiné.

Après un stockage réfrigéré de 21 jours, la teneur en composés carbonylés de jambon cuit témoin et celle du jambon cuit pressurisé restent stables. Cependant, une augmentation considérable de la teneur en carbonyles est observée à J+21 dans le jambon cuit biopréservé (augmentation de 26 % par rapport à J+21) et dans le jambon cuit biopréservé puis pressurisé (augmentation de 28 %). L'ajout de bactéries bioprotectrices dans le jambon cuit, traité ou non par hautes pressions induirait donc la formation de composés carbonylés au cours du stockage du jambon cuit.

b. Teneur en thiols

Pour mieux évaluer l'oxydation des protéines, un dosage de la teneur en thiols accessibles et en thiols libres a été effectué. En effet, la diminution des groupements SH libres est souvent liée à l'oxydation des protéines. En outre, les thiols accessibles ont également été dosés pour évaluer la réversibilité des réactions d'oxydation des thiols. Les thiols accessibles comprennent les groupements SH exposés à la surface ou enfouis dans la structure protéique. Ici, l'urée a été utilisée comme agent réducteur pour la réduction des liaisons avant l'estimation des thiols accessibles.

b.1. Effet du procédé sur la teneur en thiols du jambon cuit

L'effet du procédé et des différents traitements (hautes pressions, biopréservation et traitement combiné) sur la teneur en thiols accessibles et thiols libres est présenté sur la figure 57.

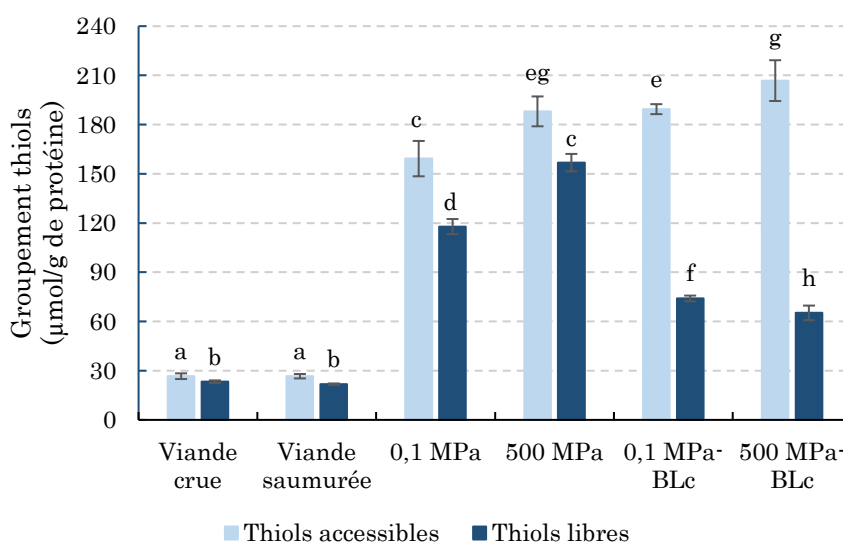


Figure 57 : Effet du procédé sur la teneur en thiols libres et thiols accessibles (en $\mu\text{mol/g}$ de protéine) du jambon cuit. Les barres représentent l'intervalle de confiance de la moyenne et les lettres différentes indiquent des différences significatives ($n=3$).

Aucune différence significative n'a été constatée entre les niveaux de thiols libres et de thiols accessibles dans les échantillons de viande crue et de viande saumurée, indiquant que le saumurage n'a aucun effet significatif sur l'oxydation des thiols. Cependant, le nombre de thiols extraits a augmenté de manière significative après la cuisson (de $26,63 \pm 1,35 \mu\text{mol/g}$ de protéines dans la viande saumurée à $159,26 \pm 10,78$

$\mu\text{mol/g}$ de protéines dans le jambon cuit). Une augmentation supplémentaire significative jusqu'à $188,06 \pm 9,11 \mu\text{mol/g}$ de protéines est constatée après le traitement par hautes pressions. La teneur en thiols accessibles du jambon cuit biopréservé est plus élevée par rapport à celle du jambon cuit témoin et cette teneur augmente avec le traitement combiné (par rapport au jambon cuit témoin et au jambon cuit biopréservé). Cependant, la teneur en thiols accessibles du jambon cuit pressurisé et celle du jambon cuit biopréservé puis pressurisé sont similaires.

Les groupements SH maintiennent la structure tertiaire des protéines. Les modifications de la teneur en SH peuvent donc refléter le degré d'altération de la structure tertiaire et quaternaire des protéines (Tian & Du, 2007 ; Zhang *et al.*, 2017). La teneur en thiols accessibles augmente au fur et à mesure de la fabrication du jambon cuit et après les différents traitements. Le traitement thermique favorise la dénaturation de la structure native des protéines et conduit à l'exposition des groupements thiols. En effet, lors de la montée en température, les résidus de protéines et les liaisons disulfures qui ne sont pas accessibles dans la conformation native deviennent disponibles et peuvent réagir avec le milieu et les autres molécules (Vischers & Jongh, 2005). Ceci expliquerait l'augmentation des thiols accessibles après la cuisson. L'augmentation des thiols accessibles après traitement par hautes pressions suppose l'existence d'une dénaturation supplémentaire induite par la pression. Cette hypothèse est confirmée par les résultats de la calorimétrie qui ont montré une dénaturation complète de la myosine après traitement par hautes pressions.

Une augmentation des thiols libres est également observée après cuisson ($117,82 \pm 4,61 \mu\text{mol/g}$ de protéine) et après hautes pressions ($156,80 \pm 5,32 \mu\text{mol/g}$ de protéine). Cependant, une différence est observée entre les teneurs en thiols accessibles et celles en thiols libres du jambon cuit et du jambon pressurisé. Ceci montre que les groupements SH accessibles dosés dans le milieu proviennent des groupements libres à la surface des protéines mais également des liaisons disulfures S-S.

Après l'ajout de bactéries lactiques, la teneur en thiols libres diminue considérablement (diminution de 37 % par rapport au jambon cuit témoin), et de même après le traitement combiné (diminution de 45 % par rapport au jambon cuit témoin). La diminution de groupement thiols est assimilée à des réactions d'oxydation (Jongberg *et al.*, 2017). En effet, dans la conformation native des protéines, une grande partie des groupements sulfhydryles libres est enfouie dans la structure des protéines et sont protégés de l'attaque des radicaux libres (Soladoye *et al.*, 2015). Leur exposition rend les protéines plus susceptibles à l'oxydation qu'à l'état natif. Ainsi, l'ajout de bactéries bioprotectrices induit une oxydation des protéines par la formation de ponts disulfures ou d'autres composés d'oxydation des thiols, et cette oxydation est plus poussée lorsque la biopréservation est combinée au traitement par hautes pressions.

b.2. Evolution de la teneur en thiols au cours du stockage du jambon cuit

L'évolution de la teneur en thiols a également été suivie au cours du stockage réfrigéré. La figure 58 montre l'évolution des thiols au cours du stockage du jambon cuit témoin.

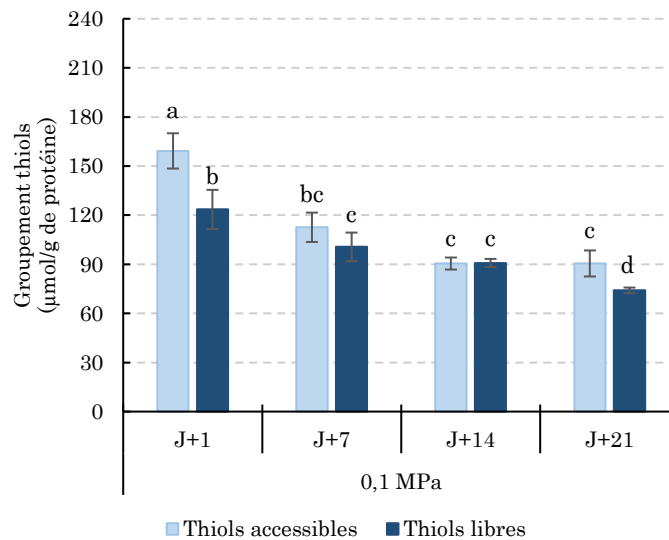


Figure 58 : Evolution de la teneur en thiols libres et thiols accessibles (en $\mu\text{mol/g}$ de protéine) du jambon cuit témoin au cours du stockage. Les barres représentent l'intervalle de confiance de la moyenne et les lettres différentes indiquent des différences significatives ($n=3$)

La teneur initiale en thiols accessibles ($159,26 \pm 10,78 \mu\text{mol} / \text{g}$ de protéines) du jambon cuit témoin est significativement supérieure à la teneur en thiols libres ($123,53 \pm 11,95 \mu\text{mol} / \text{g}$ de protéines). Ceci indique qu'une oxydation des thiols aurait déjà eu lieu lors de la fabrication, du saumurage, de la cuisson, du découpage en dés par exemple. Ensuite, la teneur en thiols accessibles a diminué de manière significative de 29% entre J+1 et J+7 et de 20% entre J+7 et J+14. Parallèlement, une diminution de la teneur en thiols libres a également été observée entre J+1 et J+7. À J+7 et J+14, les teneurs en thiols libres et en thiols accessibles sont similaires. La diminution des groupements thiols pourrait être attribuée à l'attaque directe d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) au niveau des groupements thiols du résidu de cystéine des protéines, les convertissant en liaisons disulfure et autres produits d'oxydation du thiol, tels que l'acide sulfénique, l'acide sulfinique et sulfonique, et les thiosulfonates (Rysman *et al.*, 2016, Nagy & Winterbourn, 2010). De plus, la diminution des thiols accessibles implique que l'oxydation des thiols serait une réaction irréversible. A J+21, les thiols accessibles sont restés au même niveau qu'à J+14, alors que les thiols libres ont encore diminué. Ainsi, l'oxydation du thiol se poursuit jusqu'au 21^{ème} jour de stockage. Cependant, les réactions d'oxydation des thiols à J+21 sont réversibles car la quantité de thiols accessibles n'a pas diminué. En effet, selon Nagy & Winterbourn (2010), l'oxydation des thiols est un phénomène complexe et peut conduire à la formation de multiples produits d'oxydation, l'acide sulfénique qui est un produit d'oxydation réversible des thiols.

L'évolution de la teneur en thiols libres et totaux du jambon cuit pressurisé lors du stockage réfrigéré est présentée sur la figure 59.

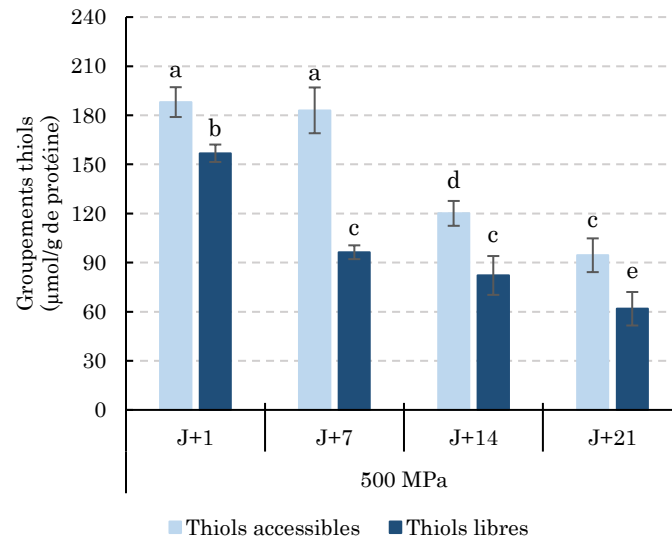


Figure 59 : Évolution de la teneur en thiols libres et thiols accessibles (en $\mu\text{mol/g}$ de protéine) du jambon cuit pressurisé au cours du stockage. Les barres représentent l'intervalle de confiance de la moyenne et les lettres différentes indiquent des différences significatives ($n=3$)

La teneur en thiols accessibles du jambon cuit pressurisé est nettement plus élevée que celle du jambon cuit témoin. Tout au long du stockage réfrigéré, la concentration en thiols accessibles du jambon cuit pressurisé diminue progressivement, mais la concentration reste supérieure à celle du jambon cuit témoin. Ceci montre que le traitement par hautes pressions a induit une désorganisation de la structure protéique du jambon cuit, ce qui conduit à une meilleure accessibilité des groupements SH. En effet, il est connu que les hautes pressions peuvent induire une dénaturation des protéines (Grossi *et al.*, 2016). Le changement de conformation de la structure de la protéine, en particulier des protéines myofibrillaires, provoqué par la pression conduit à l'exposition des groupements SH enfouis dans la structure de la protéine, les rendant accessibles au dosage. Ces résultats sont cohérents avec ceux de Chapleau *et al.* (2002) sur des protéines myofibrillaires.

A J+1, les thiols accessibles du jambon cuit pressurisé sont significativement plus élevés que les thiols libres (respectivement $188,06 \pm 9,11 \mu\text{mol/g}$ de protéine et $156,80 \pm 5,32 \mu\text{mol/g}$ de protéine). Ces niveaux sont supérieurs à ceux du jambon cuit témoin. Cela signifie que le traitement par hautes pressions a induit une oxydation supplémentaire des thiols par rapport à celle qui s'est produite lors de la fabrication du jambon cuit. À J+7, la concentration en thiols accessibles du jambon cuit pressurisé est restée identique à celle du J+1, tandis que les thiols libres ont fortement diminué jusqu'à atteindre le même niveau que celui du jambon cuit témoin (respectivement $96,34 \pm 4,21 \mu\text{mol/g}$ de protéine et $100,62 \pm 8,64 \mu\text{mol/g}$ de protéine). Contrairement au jambon cuit témoin, les réactions d'oxydation des thiols se produisant entre J+1 et J+7 dans le jambon cuit pressurisé seraient des réactions réversibles. Après J+7, les thiols accessibles du jambon cuit pressurisé diminuent progressivement jusqu'à J+21, et de même pour les thiols libres. Cependant, la teneur en thiols accessibles est toujours plus élevée par rapport à la teneur en thiols libres. Ces résultats

montrent la coexistence de réactions d'oxydation des thiols réversibles et irréversibles dans le jambon cuit traité par hautes pressions, contrairement au jambon cuit non traité dans lequel les réactions irréversibles prédominent. Cela montre la désorganisation de la structure protéique induite par le traitement par hautes pressions et se poursuivant pendant le stockage réfrigéré.

L'évolution de la teneur en thiols du jambon cuit biopréservé et du jambon cuit biopréservé puis pressurisé au cours du stockage réfrigéré est présentée sur la figure 60.

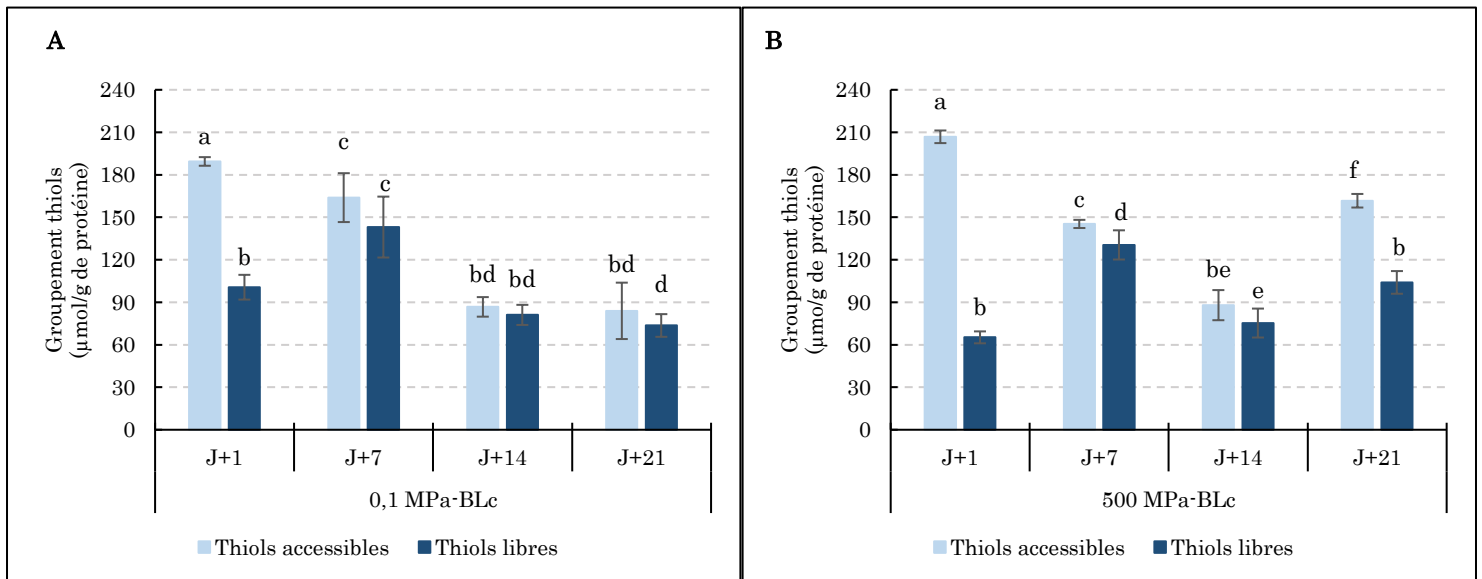


Figure 60 : Évolution de la teneur en thiols libres et thiols accessibles (en µmol/g de protéine) du jambon cuit biopréservé (A) et du jambon cuit biopréservé puis pressurisé (B) au cours du stockage. Les barres représentent l'intervalle de confiance de la moyenne (n=3) et les lettres différentes indiquent des différences significatives (p<0.05)

La teneur en thiols accessibles du jambon cuit biopréservé (Figure 57-A) diminue jusqu'à J+14 puis se stabilise jusqu'à J+21. Cependant, entre J+1 et J+7, une augmentation des thiols libres est observée (de $65,22 \pm 4,45$ µmol/g de protéine à $130,48 \pm 2,89$ µmol/g de protéine). Les mêmes constatations sont observées sur le jambon cuit biopréservé puis pressurisé (Figure 57-B) : diminution des thiols accessibles jusqu'à J+14 et augmentation des thiols libres entre J+1 et J+7 (de $100,42 \pm 3,04$ µmol/g de protéine à $143,08 \pm 17,25$ µmol/g de protéine). Ceci montre que des réactions d'oxydation irréversibles des thiols se produisent et marquées par la diminution des thiols accessibles. L'augmentation des thiols libres entre J+1 et J+7 est due soit à une modification de la structure protéique induite par l'ajout de bactéries bioprotectrices, soit à la réversibilité de réactions d'oxydation qui sont survenues antérieurement à la biopréservation ou au traitement combiné.

Après J+7, les thiols libres du jambon cuit biopréservé diminuent parallèlement avec les thiols accessibles jusqu'à J+14 (diminution de 43 %) puis se stabilisent jusqu'à J+21. A J+14 et J+21, les teneurs en thiols

accessibles et thiols libres sont identiques dans le jambon cuit biopréservé. Ceci correspondrait, comme dans le jambon cuit témoin, à des réactions d'oxydation irréversibles des thiols. Cependant, dans le jambon cuit biopréservé puis pressurisé, une diminution conjointe des thiols accessibles et des thiols libres est observée jusqu'à J+14, mais une augmentation des teneurs à J+21 témoigne de la réversibilité des réactions d'oxydation qui sont survenues.

III.2.6. Discussion et conclusion sur l'oxydation des protéines du jambon cuit

Le dosage des composés carbonylés et des groupements thiols a permis d'évaluer l'oxydation des protéines durant la fabrication du jambon cuit, mais également d'évaluer l'impact des différents traitements (hautes pressions, biopréservation et traitement combiné) sur l'état oxydatif du jambon cuit.

Durant la fabrication du jambon cuit, une augmentation des composés carbonylés a été observée et notamment après cuisson où l'augmentation de la teneur en carbonyles est importante. Promeyrat, Daudin & Gatellier (2013) et Gatellier *et al.* (2010) ont mis en évidence une augmentation du nombre de groupements carbonyles dans les protéines de porc et de viande lors d'une cuisson entre 45 °C et 96 °C. Les composés carbonylés peuvent être générés dans les protéines par une attaque directe de radicaux libres sur certains acides aminés. En réagissant avec l'oxygène et les peroxydes, le fer sous ses différentes formes (fer libre ou ferrique) est principalement impliqué dans les réactions en chaîne conduisant à la production de radicaux libres (Estévez, 2011).

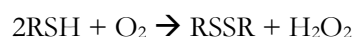
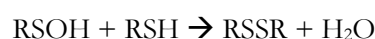
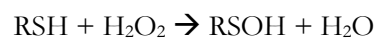
Avec le test au DNPH, il n'est pas possible d'identifier spécifiquement les acides aminés conduisant à la formation des carbonyles, mais, comme rapporté par la revue de Estévez (2011), il s'avère que les composés carbonylés sont principalement dérivés de la proline, de la thréonine, de la lysine et de l'arginine. La lysine, l'arginine et la thréonine étant des acides aminés essentiels pour l'homme, leur oxydation conduit à une diminution de la valeur nutritionnelle de produit.

Les hautes pressions ainsi que la biopréservation et le traitement combiné ne génèrent pas de composés supplémentaires dans le jambon cuit. Cependant, au cours du stockage, une nette augmentation des carbonyles est constatée dans le jambon cuit biopréservé et dans le jambon cuit biopréservé puis traité par hautes pressions, tandis que les carbonyles du jambon cuit témoin et du jambon cuit pressurisé restent stables. Cette augmentation des composés carbonylés dans les échantillons biopréservés coïncide avec la diminution des groupements thiols (entre J+7 et J+14). Ainsi, l'oxydation des thiols aurait donc partiellement contribué à la formation de composés carbonylés.

Le dosage des groupements thiols a montré une augmentation de l'accessibilité des groupements SH au cours de la fabrication du jambon cuit mais également après les traitements (hautes pressions, biopréservation et traitement combiné). Ceci témoigne du changement conformationnel des protéines au cours de ces différentes étapes. En effet, parmi tous les acides aminés, les résidus de cystéine présentent la plus petite surface accessible aux solvants de la protéine native, ce qui indique que cet acide aminé est

principalement orienté à l'intérieur de la protéine (Rose *et al.*, 1985). Lors de la cuisson, du traitement par hautes pressions, de la biopréservation et du traitement combiné, les protéines se dénaturent comme il a été montré dans la partie III.2.2. Ceci conduit alors à une plus grande exposition des groupements SH qui étaient enfouis dans la structure protéique native. Les résultats de DSC ont montré une dénaturation des protéines myofibrillaires : une dénaturation partielle de la myosine après cuisson, une dénaturation complète de la myosine après traitement par hautes pressions et biopréservation et une dénaturation complète des protéines myofibrillaires (myosine et actine) après le traitement combiné. Ces différents niveaux de dénaturation des protéines expliqueraient l'ampleur de l'accessibilité des thiols après chaque traitement. Toutefois, la dénaturation de la myosine semble contribuer dans une plus grande mesure à cette accessibilité des thiols. En effet, la myosine représente environ 45 à 50 % des protéines myofibrillaires et contient 40 groupes sulfhydryles dans sa structure tandis que l'actine représente environ 20 % des protéines myofibrillaires et présente 9 groupes sulfhydryles dans sa structure (Hamil & Botineștean, 2016 ; Pearson & Young, 1989).

Le dosage des thiols a également montré une évolution biphasique. Tout d'abord, la fabrication du jambon cuit ainsi que les différents traitements ont conduit à une plus grande accessibilité des thiols. Ensuite durant le stockage réfrigéré, une diminution à la fois des thiols accessibles et des thiols libres est observée. L'exposition des groupements thiols a en effet rendu ses groupements réactifs sensibles à l'oxydation. Les groupements thiols peuvent former de nombreux produits d'oxydation, dont les plus courants sont l'acide sulfénique (RSOH), l'acide sulfinique (RSOOH), l'acide sulfonique (RSOOOH) ou des réticulations disulfure (RSSR) via les réactions d'oxydation non radicalaires avec le peroxyde d'hydrogène (Jongberg *et al.*, 2017 & Lund *et al.*, 2011).



Ainsi, l'oxydation des groupements thiols a généré divers produits dont certains sont réversibles et d'autres irréversibles. Toutefois, les résultats ont montré que dans le jambon cuit non traité par hautes pressions (biopréservé ou non) les réactions d'oxydation des thiols observées sont plutôt irréversibles, tandis que dans le jambon traité par hautes pressions (biopréservé ou non), une coexistence des réactions irréversibles et réversibles est constatée.

III.3. Effet des hautes pressions et de la biopréservation sur la digestibilité des protéines

Il a été démontré que les protéines subissaient différents changements au cours de la fabrication du jambon cuit mais également après traitement par hautes pressions, biopréservation et traitement combiné. L'évaluation de ces différentes modifications est importante, car elles peuvent d'un côté modifier de manière significative les propriétés technologiques du produit, mais aussi entraîner la perte d'acides aminés essentiels et la diminution de la digestibilité des protéines, affectant ainsi la qualité nutritionnelle des produits carnés. Une évaluation de la digestibilité des protéines du jambon cuit a donc été entreprise, dans le but d'estimer l'impact des modifications que les protéines du jambon cuit ont subies au cours de sa fabrication et après l'application des hautes pressions, de la biopréservation et du traitement combiné biopréservation-hautes pressions.

La plupart des nutriments sont ingérés sous une forme soit trop complexe pour être absorbée, soit insoluble, et par conséquent non digestible ou incapable d'être digérée. Dans le tractus gastro-intestinal, une grande partie de ces substances est solubilisée et ensuite dégradée par voie enzymatique en molécules simples, de taille suffisamment petite et sous une forme permettant leur absorption à travers l'épithélium muqueux (Hornbuckle *et al.*, 2008). La digestion est donc un processus dynamique. Les aliments entrant dans le tractus gastro-intestinal seront délivrés d'un compartiment à l'autre à des débits variables en fonction de leur structure, de leur contenu calorique, de leur osmolarité et de leurs propriétés rhéologiques (Dupont & Mackie, 2015).

Dans cette étude, l'évaluation de la digestibilité des protéines a été réalisée par digestion *in vitro* en mimant ces différentes étapes de la digestion. Les modèles de digestion *in vitro* sont largement utilisés pour étudier la digestibilité, la dégradation, la bioaccessibilité et la stabilité des échantillons dans des conditions gastro-intestinales simulées, car ils sont plus pratiques, plus acceptables sur le plan éthique, plus rapides et moins onéreux que les modèles *in vivo* (Minekus *et al.*, 2014). Ainsi, l'approche *in vitro* adoptée consistait en une digestion statique mimant à la fois la digestion gastrique et intestinale. Pour les deux compartiments, la cinétique a été décrite et interprétée à l'aide d'une approche de modélisation permettant d'évaluer le taux maximal de digestion (D_{max}) et la vitesse de digestion en évaluant le temps de demi-vie $t_{1/2}$ c'est-à-dire le temps nécessaire pour atteindre la dégradation de la moitié de D_{max} .

III.3.1. Effet du procédé sur la digestibilité des protéines du jambon cuit

La figure 61 montre l'effet du traitement sur les deux paramètres cinétiques Dmax et t_{1/2}.

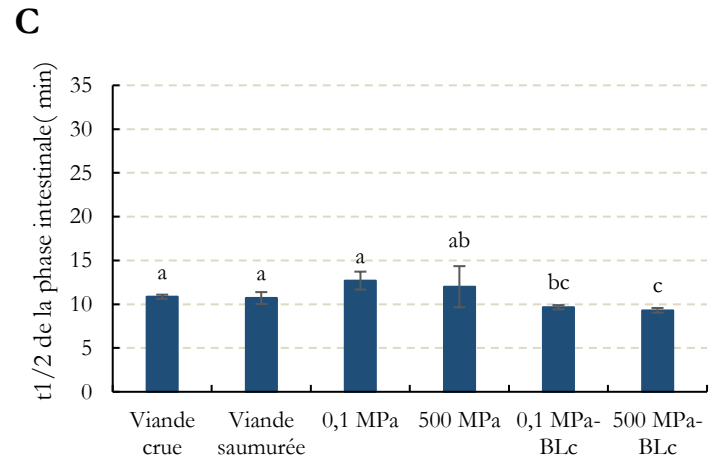
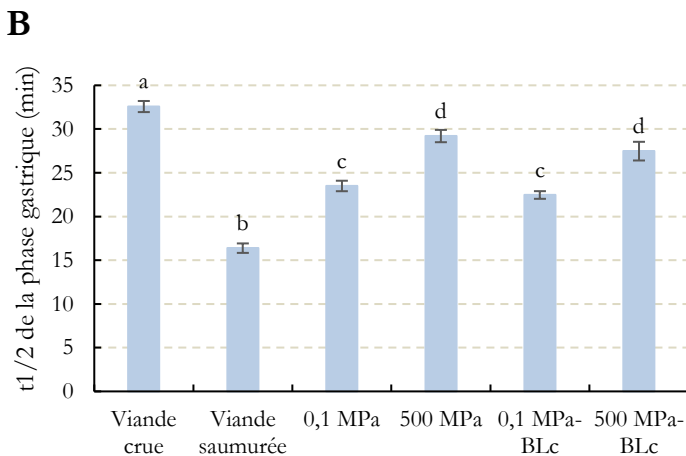
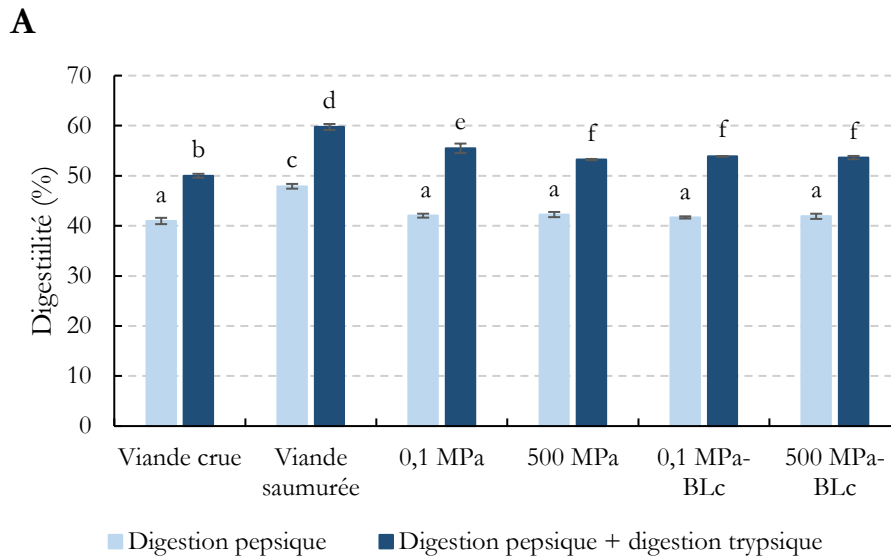


Figure 61 : Effet du procédé de fabrication sur la digestion maximale Dmax (A) et le temps de demi-vie t_{1/2} (B et C) du jambon cuit au cours de la digestion gastrique et intestinale. Les barres représentent l'intervalle de confiance de la moyenne (n=6) et les lettres différentes indiquent des différences significatives (p < 0,05).

a. Digestion gastrique

La figure 58-A montre que la viande saumurée a une digestibilité supérieure (48 ± 0,47 %) à celle de la viande crue (41 ± 0,56 %), du jambon cuit (42 ± 0,39%), du jambon cuit pressurisé (42 ± 0,52 %), du jambon cuit biopréservé (41,67 ± 0,22 %) et du jambon cuit biopréservé puis pressurisé (41,90 ± 0,52 %). Une augmentation de 14% a été observée entre la digestibilité gastrique de la viande crue et celle de la viande saumurée. Le saumurage a donc un effet positif sur la protéolyse des protéines lors de la digestion gastrique. La figure 58-B montre les temps de demi-vie de la digestion gastrique. La viande crue présente le t_{1/2} le plus élevé (32,57 ± 0,63 min). Ce temps de demi-vie diminue significativement après le saumurage à 16,38 ± 0,54

min. Ainsi, le saumurage augmente la vitesse d'hydrolyse des protéines. L'ajout de saumure peut entraîner diverses modifications physicochimiques des protéines. L'étude des modifications protéiques au cours de la fabrication du jambon cuit a montré que le saumurage a induit une dénaturation des protéines, comme l'a montré la perte de solubilité des protéines après le saumurage et confirmé par la diminution de l'enthalpie de dénaturation. Le saumurage provoque le déploiement partiel des protéines, ce qui expose les sites de clivage à l'enzyme digestive. Ainsi, le saumurage a augmenté la digestibilité et la vitesse de digestion des protéines par rapport à la viande crue.

Après la cuisson, la digestibilité gastrique a diminué par rapport à la digestibilité de la viande saumurée (Figure 58-A). Cependant, le temps de demi-vie a augmenté de $16,38 \pm 0,54$ min pour la viande saumurée à $23,49 \pm 0,42$ min après la cuisson (Figure 58-B). Ainsi, la cuisson a réduit la digestibilité et la vitesse de digestion pepsique des protéines de la viande. Pendant la cuisson de la viande, les protéines sont sujettes à des modifications conformationnelles et des phénomènes d'oxydation. En effet, les résultats de DSC ont montré que la cuisson a provoqué une dénaturation substantielle des protéines, entraînant une perte de solubilité. En outre, l'augmentation de la température a induit l'oxydation des protéines, comme indiqué précédemment par la quantification des teneurs en carbonyles et thiols. Par conséquent, la dénaturation et l'oxydation conduiraient à une agrégation de protéines et masqueraient les sites de clivage des enzymes digestives. Les modifications structurelles provoquées par la cuisson seraient susceptibles de modifier et de réduire l'accès des enzymes digestives aux sites de clivage, ce qui complique la protéolyse par la pepsine, réduisant ainsi la digestibilité et la vitesse de digestion du jambon cuit (Santé-Lhoutellier *et al.*, 2008).

Cependant, même si la digestibilité du jambon cuit est semblable à celle de la viande crue, la vitesse de digestion est plus élevée pour le jambon cuit. Ainsi, l'étape de cuisson augmente la vitesse de digestion des protéines de la viande. Cet effet s'explique par une dénaturation progressive des protéines, d'abord par le saumurage puis par la cuisson par pallier, ce qui augmente la bioaccessibilité des protéines pour les protéases digestives. Selon Santé-Lhoutellier *et al.* (2017), une explication plausible est que les acides aminés aromatiques (acides aminés hydrophobes correspondant aux sites de clivage de la pepsine) se retrouvent à la surface des protéines de viande, au lieu d'être internalisés comme c'est le cas des protéines solubles natives. Les mêmes constatations ont été observées par Bax *et al.* (2012) sur de la viande de porc cuite à 70 °C.

Après le traitement par hautes pressions, la digestibilité gastrique reste inchangée par rapport à celle du jambon cuit (Figure 61-A), tandis que le temps de demi-vie augmente de 19 % par rapport à celui du jambon cuit (Figure 61-B). Cela signifie que l'application d'un traitement hautes pression sur du jambon cuit diminue la vitesse de protéolyse. Ainsi, malgré une dénaturation accrue des protéines après cuisson, une agrégation plus poussée se serait encore produite. Cela pourrait être associé à une augmentation de l'exposition des groupements sulfhydryles identifiés lors de la détermination de la teneur en thiols accessibles. Ainsi, certains groupements thiols, qui sont inaccessibles dans le jambon cuit, deviennent plus exposés lors du traitement par hautes pressions.

Ces groupements sulfhydryles exposés peuvent être facilement oxydés et pourraient contribuer à la formation d'un grand nombre de liaisons disulfures, d'interactions protéine-protéine et d'agrégats qui gêneraient la digestion par la pepsine et réduiraient la vitesse de digestion. De même, ces groupements thiols sont également susceptibles d'être oxydés lors de la digestion elle-même. En effet, Rysman *et al.* (2016) ont montré que l'oxydation des thiols libres était le mécanisme d'oxydation des protéines le plus abondant au cours de la digestion, soulignant que les groupes thiols sont très réactifs et sensibles à la dégradation par oxydation. Ainsi, durant la digestion à proprement parler, les mêmes phénomènes d'oxydation des thiols réactifs peuvent conduire au masquage des sites de clivage de l'enzyme.

Les résultats ont montré que la biopréservation et le traitement combiné ont légèrement diminué la digestibilité du jambon cuit, mais le taux de digestion reste identique à celui du jambon cuit pressurisé. Le temps de demi-vie du jambon cuit biopréservé est similaire à celui du jambon cuit témoin tandis que celui du jambon cuit biopréservé puis pressurisé est similaire à celui du jambon cuit pressurisé. Les mêmes phénomènes de changement conformationnel et d'agrégation pourraient également expliquer ces résultats. Ainsi, juste après traitement, l'ajout de bactéries lactiques n'a pas d'effet sur la digestion gastrique des protéines.

b. Digestion intestinale

Après la digestion intestinale (Figure 61-A), la viande saumurée a toujours le plus haut degré de digestibilité. $60 \pm 0,60$ % des protéines de la viande saumurée ont été digérées après digestion intestinale contre $50 \pm 0,38$ % pour la viande crue, $55 \pm 0,96$ % pour le jambon cuit, $53,87 \pm 0,02$ % pour le jambon cuit biopréservé et $53,63 \pm 0,32$ % pour le jambon cuit biopréservé puis pressurisé. Le saumurage favorise donc fortement la digestibilité des protéines de viande. Après la cuisson, la digestibilité a augmenté de 10 % par rapport à celle de la viande crue. L'activité de la trypsine sur les protéines préalablement digérées par la pepsine a été influencée par les étapes de saumurage et de cuisson, comme il a été observé lors de la digestion pepsique.

La vitesse de digestion lors de la phase intestinale (Figure 61-C) est beaucoup plus rapide que celle de la phase gastrique. Ceci est dû au fait que les protéines sont déjà fortement hydrolysées par la pepsine. Les temps de demi-vie de la viande crue, de la viande saumurée, du jambon cuit sont similaires ; par contre ceux des jambons cuits biopréservés sont légèrement mais significativement plus faibles. Ce qui traduit une vitesse de digestion trypsique légèrement plus rapide. Ainsi, l'ajout de bactéries lactiques a augmenté la vitesse de digestion des protéines du jambon cuit. Ceci pourrait être lié à l'activité protéolytique de certaines bactéries lactiques qui auraient ainsi pu contribuer à l'hydrolyse des protéines.

c. Profil électrophorétique des digestats

La figure 62 montre le profil électrophorétique des digestats obtenus après digestion pepsique puis trypsique de la viande crue et du jambon cuit. Les profils électrophorétiques des échantillons traités par hautes pressions ainsi que celui biopréservés et biopréservés puis pressurisés n'ont pas montré de différence par rapport à celui du jambon cuit.

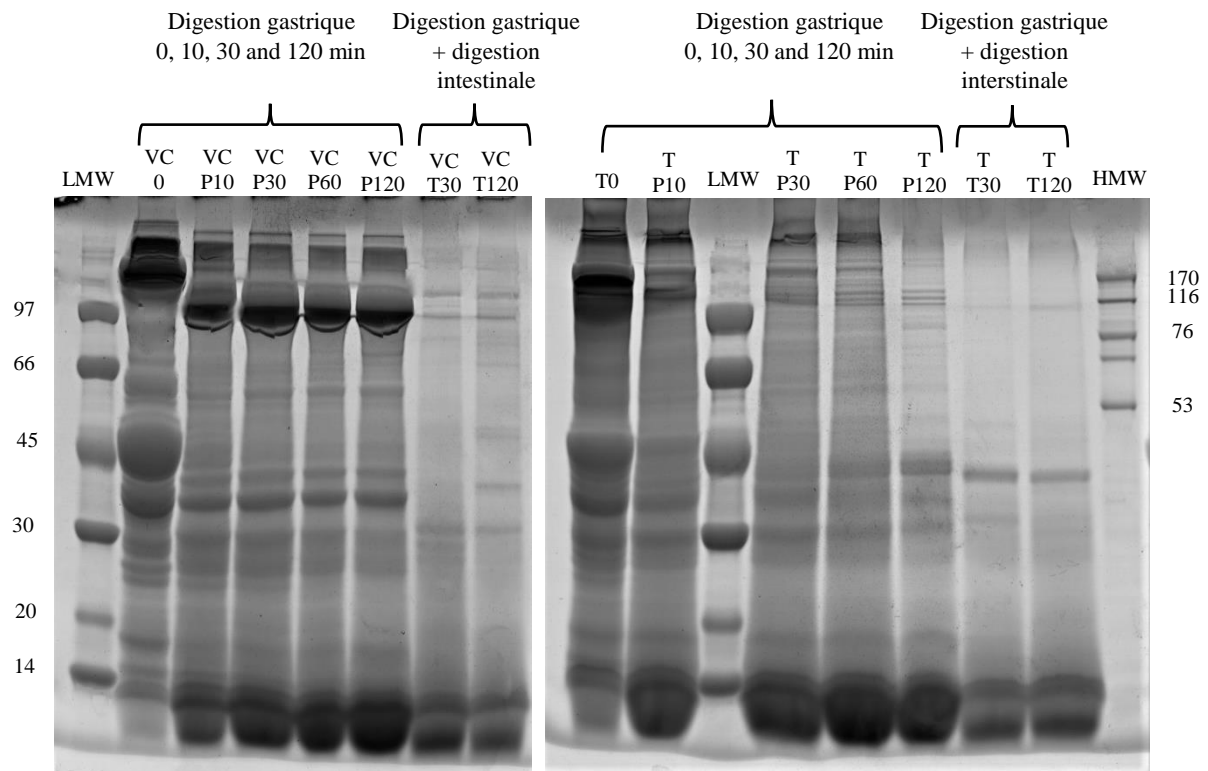


Figure 62 : Profil électrophorétique des digestats de viande crue VC et de jambon cuit (T) prélevés à différents temps de la digestion pepsique (P10 : 10min, P30 : 30 min, P60 : 60 min, P120 : 120 min) et de la digestion trypsique (T30 : 30 min, T120 : 120 min)

Une différence significative peut être observée entre l'intensité des bandes de la viande crue et l'intensité des bandes du jambon cuit dès 10 min de digestion (R-P10 et H-P10). En effet, l'intensité de la plupart des bandes de protéines présentes dans le jambon cuit est considérablement réduite après 10 min de digestion gastrique. De plus, la viande cuite digérée par la pepsine présente plus de peptides de faible poids moléculaire (<20 kDa) et moins de protéines ou de peptides de poids moléculaire élevé (> 30 kDa) que la viande crue. Cela suggère une plus grande protéolyse du jambon cuit par rapport à la viande crue.

L'intensité de la bande correspondant à la troponine T (37 kDa) diminue considérablement tout au long de la digestion gastrique dans le jambon cuit, tandis que dans la viande crue, son intensité reste assez forte jusqu'à 120 min de digestion par la pepsine. Cependant, l'actine semble être facilement hydrolysée par la pepsine dans la viande crue et le jambon cuit, car la bande qui correspond à cette protéine n'est plus visible après seulement 10 min de digestion. Les protéines de poids moléculaire supérieur à 90 kDa semblent être assez résistantes à l'action de la pepsine dans la viande crue. Elles ont également été observées dans les digestats de viande crue après 30 min de digestion gastrique, et ne semblent pas diminuer en intensité lors de la digestion, alors que dans le jambon cuit, leur intensité a diminué considérablement après 10 min de digestion par la pepsine.

III.3.2. Évolution de la digestibilité au cours du stockage

La digestibilité et la vitesse de digestion des protéines ont également été évaluées au cours du stockage réfrigéré. Les D_{max} et $t_{1/2}$ ont été évaluées à J+21, où le nombre de bactéries lactiques est le plus élevé afin de connaître l'effet de l'ajout de bactéries lactiques sur la digestibilité des protéines. La digestion trypsique ne présentant aucune information complémentaire et présentant les mêmes tendances que la digestion pepsique, nous avons choisi de ne présenter que les résultats de la digestion pepsique. Les résultats sont présentés sur la figure 63.

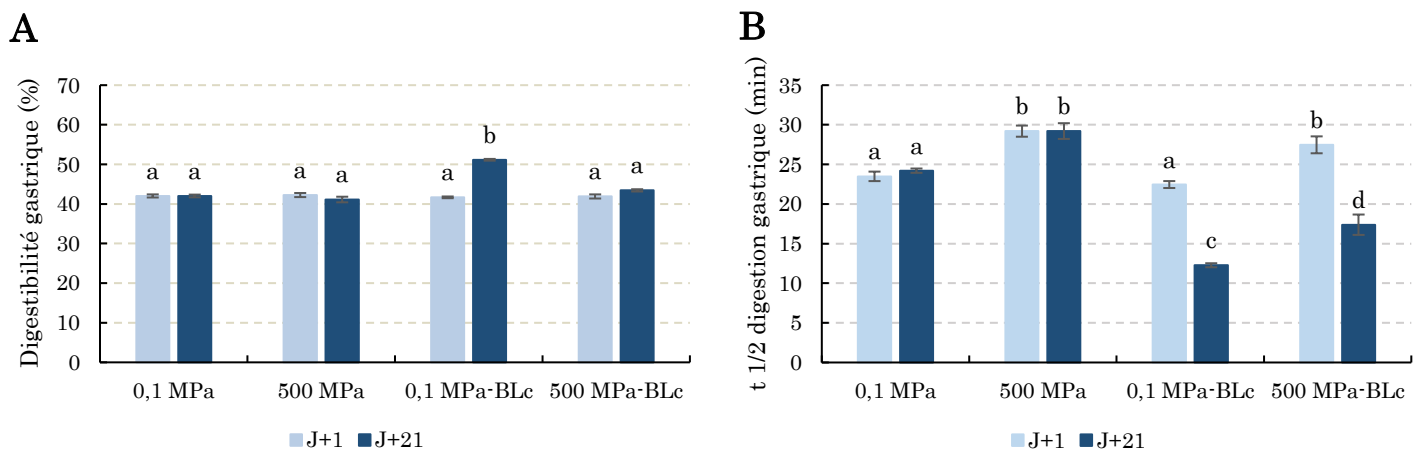


Figure 63 : Évolution de la digestion gastrique maximale D_{max} (A) et du temps de demi-vie gastrique $t_{1/2}$ (B) du jambon cuit, du jambon cuit pressurisé, du jambon cuit biopréservé et du jambon cuit biopréservé puis pressurisé au cours du stockage réfrigéré. Les barres représentent l'intervalle de confiance de la moyenne ($n=6$) et les lettres différentes indiquent des différences significatives ($p < 0,05$).

La digestibilité maximale (D_{max}) du jambon cuit témoin, du jambon cuit pressurisé et du jambon cuit biopréservé puis pressurisé ne changent pas entre J+1 et J+21. Cependant, la digestibilité maximale du jambon cuit biopréservé a significativement augmenté de $41,67 \pm 0,22$ % à J+1 à $51,16 \pm 0,22$ % à J+21 soit une augmentation de 19 %. Le temps de demi-vie du jambon cuit biopréservé a fortement diminué au cours du stockage, passant de $22,46 \pm 0,44$ min à J+1 à $12,27 \pm 0,25$ min à J+21. De même, le temps de demi-vie du jambon cuit biopréservé puis pressurisé a diminué de $27,47 \pm 1,07$ min à J+1 à $17,39 \pm 1,29$ min à J+21. Le développement de bactéries bioprotectrices au cours du stockage a donc fortement influencé la vitesse de digestion du jambon cuit. Ceci pourrait être dû à l'activité protéolytique des bactéries lactiques et notamment de *L. lactis* qui est la bactérie bioprotectrice utilisée dans cette étude. Les systèmes protéolytiques des bactéries lactiques sont importants pour rendre les protéines, les peptides et les acides aminés disponibles pour la croissance bactérienne, mais ces systèmes peuvent également jouer un rôle important dans les propriétés texturales et organoleptiques des aliments fermentés (Hayek & Ibrahim, 2013). Ainsi, les bactéries lactiques sont largement utilisées dans les produits carnés fermentés. Il est bien connu que les ferments secrètent des protéases qui libèrent les acides aminés au cours de la maturation et contribuent au goût, à la texture (tenue de tranche) des produits carnés fermentés et contribuent

indirectement à leur arôme typique, car ils sont précurseurs de nombreux composés volatiles (Chen *et al.*, 2016 ; Flores & Toldrá, 2011 ; Candogan *et al.*, 2009). Yin *et al.* (2002) ont montré que la protéolyse dans le haché de maquereaux se produisait rapidement pendant la fermentation avec l'ajout de bactéries lactiques et notamment de *L. lactis* en raison de l'action de protéases acides secrétées par les bactéries lactiques.

L. lactis domine la flore endogène du jambon cuit biopréservé puis pressurisé. Les modifications de la digestibilité des protéines de cet échantillon pourraient donc être liées à l'activité protéolytique de *L. lactis*. Cette bactérie lactique est largement utilisée comme ferment dans la fabrication des produits laitiers. Cependant, son utilisation dans les produits carnés n'est pas courante. Les lactocoques ont une capacité limitée à synthétiser des acides aminés et dépendent donc de l'utilisation de sources d'azote exogènes pour une croissance optimale. En se développant dans le lait, ces organismes dégradent les protéines du lait (α_{S1} -, α_{S2} -, κ - et β -caséine) pour répondre à leurs besoins en acides aminés. Les acides aminés essentiels à la croissance de *L. lactis* sont l'acide glutamique, la valine, l'histidine, la leucine et la cystéine ou la méthionine (Teusink & Molenaar, 2017 ; Flahaut *et al.*, 2013).

Le système protéolytique de *L. lactis* est un exemple de voie présente dans plusieurs bactéries qui utilisent des protéines exogènes comme source d'azote. La première étape dans l'utilisation des protéines du lait est la dégradation de ces protéines en oligopeptides par une protéase extracellulaire (PrtP). Dans la deuxième étape, les peptides sont absorbés par le système de transport d'oligopeptides (Opp), mais on ignore quels peptides de l'hydrolysate de caséine sont transportés. Dans la troisième étape, les peptides accumulés sont dégradés par une multitude de peptidases. A titre d'exemples, les aminopeptidases générales PepN et PepC sont capables de libérer des résidus d'acides aminés N-terminaux d'un large éventail de di-, tri- et oligopeptides. Les aminopeptidases PepV et PepT ont également de grandes spécificités, mais sont spécifiques des di- et des tripeptides, respectivement. Les endopeptidases PepO, PepO2, PepF et PepF2 hydrolysent les liaisons peptidiques internes des oligopeptides (Savijoki *et al.*, 2006 ; Sanz *et al.*, 1999 ; Kunji *et al.*, 1998). L'activité protéolytique de *L. lactis* dans le jambon cuit pourrait être similaire à celle exercée dans le lait.

III.3.3. Conclusion sur la digestibilité des protéines

Dans la viande crue, les protéines natives internalisent en grande partie les groupements hydrophobes et possèdent donc une accessibilité limitée pour les protéases digestives notamment la pepsine. Le saumurage conduit à une dénaturation des protéines, ce qui se traduit par une externalisation des acides aminés hydrophobes et par conséquent des sites hydrophobes accessibles aux protéases.

Après le traitement thermique, une modification structurelle plus poussée est observée et à cette dénaturation vient s'ajouter le phénomène d'agrégation vraisemblablement initié par des réactions d'oxydation, d'interactions hydrophobes et de pontage covalent. Les sites hydrophobes des protéines seront donc toujours extériorisés, mais moins accessibles aux protéases du fait de l'agrégation protéique. Cela a

ainsi conduit à une diminution de la digestibilité ainsi que de la vitesse de digestion après cuisson. Toutefois, même si l'étape de cuisson a diminué la digestibilité de la viande par rapport à la viande saumurée, la digestibilité et la vitesse de digestion du jambon cuit restent plus élevées que celles de la viande crue. Ainsi, la transformation de la viande en jambon cuit améliore la digestion des protéines grâce aux étapes de saumurage et de cuisson. Le traitement par hautes pressions ainsi que la biopréservation et le traitement combiné diminuent légèrement la digestibilité des protéines du jambon cuit. Cela serait dû à une plus grande exposition des groupements sulfhydryles ce qui favorise leur oxydation et la formation de pont disulfure ainsi que les interactions protéine-protéine conduisant à des phénomènes d'agrégation. Ces derniers conduisent ensuite à un masquage des sites de clivage des enzymes et ainsi à une diminution de la digestibilité.

Par ailleurs, la digestibilité intestinale des protéines de tous les échantillons ne présente pas de différence significative. À la fin de cette phase, la tendance reste la même qu'après la digestion gastrique. Cependant, la vitesse de digestion est beaucoup plus rapide du fait que les protéines sont déjà fortement hydrolysées lors de la phase gastrique. Le saumurage, la cuisson ainsi que les hautes pressions n'ont pas d'effet significatif sur la vitesse de digestion intestinale des protéines. Cependant, les échantillons biopréservés traités ou non par hautes pressions présentent une vitesse de digestion intestinale plus élevée, qui pourrait être liée à l'activité protéolytique des bactéries lactiques.

Cette activité protéolytique est d'autant plus observée au 21^{ème} jour de stockage réfrigéré, où le nombre de bactéries lactiques dans le milieu est le plus élevé. Cela a conduit à une augmentation considérable de la vitesse de digestion gastrique des protéines. En effet, certaines bactéries lactiques, dont *L. lactis*, ont une capacité limitée à synthétiser des acides aminés et dépendent donc de l'utilisation de sources d'azote exogènes pour une croissance optimale. Ainsi, les bactéries lactiques contribueraient déjà à l'hydrolyse des protéines et faciliteraient l'action protéolytique des enzymes digestives, conduisant à une vitesse de digestion plus élevée.

Cette augmentation de la vitesse de digestion des protéines serait intéressante pour certaines catégories de la population, notamment pour les sportifs dont l'utilisation de protéines à digestion rapide est efficace pour stimuler la synthèse protéique après un exercice (West *et al.*, 2011) ; mais également pour les personnes âgées dont l'utilisation de protéines à digestion rapide est préférable pour obtenir une meilleure utilisation postprandiale des acides aminés alimentaires et pour la stimulation de la synthèse des protéines corporelles (Dangin *et al.*, 2003), et ainsi palier la fonte musculaire ou sarcopénie. Ainsi, étant donné sa richesse en protéines, et sa vitesse de digestion élevée, le jambon cuit biopréservé traité ou non par hautes pressions est donc un aliment intéressant dans le cadre des stratégies nutritionnelles proposées à des catégories spécifiques de la population.

Par ailleurs, il serait nécessaire de valider davantage les données par une digestion *in vivo* pour évaluer la corrélation *in vitro-in vivo* dans les modèles de digestion, car les modèles existants ne sont pas en mesure d'imiter complètement la complexité du tractus gastro-intestinal humain. En effet, malgré leur potentiel et leur large applicabilité, les systèmes de digestion *in vitro* statiques sont limités par leur incapacité à imiter complètement les processus généraux se déroulant *in vivo*, notamment le contrôle hormonal et nerveux, les

mécanismes de rétroaction, l'activité des cellules muqueuses, la complexité des mouvements péristaltiques et l'implication du système immunitaire local (Guerra *et al.*, 2012). De plus, les conditions physico-chimiques (pH, force ionique, concentrations des enzymes digestives) présentes dans les différents compartiments évoluent avec le temps de digestion, alors que le modèle de digestion *in vitro* statique utilisé dans cette étude ne prend pas en compte ces évolutions dans le temps. Il convient également de considérer le taux de digestion *in vitro* comme « potentiel » puisque l'efficacité de la mastication affecte grandement le taux de digestion des protéines de viande *in vivo*. En ce qui concerne l'efficacité globale de la digestion, l'approche statique *in vitro* s'avère un outil utile pour comparer les effets de la transformation des aliments, mais ne fournit pas de mesure de la digestibilité en tant que telle (Bohn *et al.*, 2017).

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Le projet BLacHP vise à développer un procédé innovant qui pourrait constituer une alternative à l'ajout d'additifs conservateurs tels que les nitrites notamment dans les produits carnés. La stratégie adoptée est la combinaison de la biopréservation par des bactéries lactiques avec les hautes pressions afin de contrôler à la fois la flore végétative et surtout sporulée indésirable. Dans le cadre de ce projet, l'objectif de ce travail était d'évaluer mais également comprendre l'impact de ce traitement combiné sur les propriétés technologiques, organoleptiques et sensorielles sur un produit carné réduit en nitrite et plus particulièrement le jambon cuit type « supérieur ». Les effets des deux traitements appliqués individuellement ont également été évalués afin de mieux comprendre les phénomènes induits par leur combinaison.

Acceptabilité microbiologique

Le traitement par hautes pressions (500 MPa, 20 °C, 5 min) inhibe le développement de la flore endogène jusqu'à 42 jours de stockage à 4 °C. Dans le cas d'une rupture de la chaîne du froid, le traitement par hautes pressions permet de ralentir considérablement la croissance de la flore endogène qui reste faible jusqu'à 30 jours de stockage. L'efficacité du traitement par hautes pressions sur la réduction microbienne et le maintien de la sécurité microbiologique du jambon cuit est confirmée. La biopréservation par *L. lactis* augmente la charge microbienne du jambon cuit. L'application du traitement combiné réduit la charge microbienne en sélectionnant uniquement les bactéries barorésistantes et notamment *L. lactis*. En effet, le dénombrement et l'identification par séquençage de l'ADNr 16S, ont montré que *L. lactis* reprenait en croissance après le traitement par hautes pressions et par la suite, dominait la flore endogène durant le stockage. Ainsi, en combinant la biopréservation au traitement par hautes pressions, ce dernier sélectionne la flore d'intérêt (*L. lactis*) inoculée au détriment de la flore altérante. Le traitement combiné assure donc la sécurité microbiologique du jambon cuit réduit en nitrite.

Acceptabilité sensorielle

D'un point de vue sensoriel, le traitement par hautes pressions, en inhibant la flore d'altération, améliore la qualité olfactive du jambon cuit. La biopréservation combinée ou non aux hautes pressions conduit au développement d'une odeur lactée et/ou fruitée au fur et à mesure du stockage. Cette odeur est caractéristique du diacétyle et/ou de l'acétoïne qui sont des produits du métabolisme de *L. lactis*. Le développement de cette odeur spécifique est donc lié à la croissance de *L. lactis* au cours du stockage réfrigéré. Par contre, même si le traitement n'induit pas d'odeur désagréable, il n'est pas possible d'affirmer dans cette étude si cette odeur est acceptable et/ou appréciée pour les consommateurs.

Modifications physico-chimiques

Le traitement par hautes pressions, la biopréservation et la combinaison des deux traitements ont également impacté les propriétés technologiques du jambon cuit réduit en nitrite à cause des différents changements physico-chimiques qu'ils induisent. Un test de corrélation par les coefficients de Pearson a été effectué afin

de mettre en évidence les corrélations entre les différentes variables étudiées. Les coefficients de corrélation de r Pearson ainsi que les valeurs de p montrant la significativité des coefficients sont présentés en annexe 7.

Le traitement par hautes pressions augmente le pH du jambon cuit. Les mécanismes sous-jacents à cette augmentation du pH n'ont pas été élucidés dans cette étude mais des hypothèses ont été émises telles que l'exposition des groupements basiques due à la dénaturation des protéines ou encore le changement du pouvoir tampon du jambon cuit. Par contre, la biopréservation diminue le pH du jambon cuit à cause de la production d'acide par les bactéries lactiques lors de leur croissance. Lorsque la biopréservation est combinée aux hautes pressions, le pH augmente, soit parce que les espèces bactériennes ayant survécu à la pression sont moins acidifiantes soit parce qu'elles ont perdu leur capacité acidifiante à cause de la pression.

Du point de vue technologique, les traitements (hautes pressions, biopréservation et traitement combiné) diminuent légèrement la capacité de rétention d'eau du jambon cuit pendant les premiers jours de stockage réfrigéré mais l'effet est plus notable pour le traitement par hautes pressions et cela même en présence de bactéries bioprotectrices. Cette diminution de la CRE a par ailleurs induit une perte d'eau lors du stockage ce qui explique la forte corrélation négative observée entre la CRE et l'exsudation ($r = -0,655, p < 0,05$).

L'effet sur la texture du jambon cuit est différent selon le traitement appliqué. Le traitement par hautes pressions et le traitement combiné augmentent légèrement la dureté du jambon cuit au cours du stockage réfrigéré. Cependant, l'ajout de bactéries bioprotectrices a entraîné des effets plus prononcés sur la texture du jambon cuit, notamment une diminution de la dureté et de la cohésion à la fin du stockage réfrigéré. Cela serait la conséquence de l'activité protéolytique de certaines bactéries qui se sont développées au cours du stockage. Le traitement par hautes pressions semble donc palier ces modifications de la texture lorsqu'il est combiné à la biopréservation. Cela pourrait être dû au ralentissement du développement microbien au sein du produit, mais également à la sélection induite par la pression sur la flore endogène et ne favorisant que le développement des bactéries bioprotectrices barorésistantes.

Les traitements ont également des effets sur l'état des protéines du jambon cuit. Cependant, ces effets sont moindres puisque les protéines sont déjà fortement dénaturées lors de l'étape de cuisson pendant la fabrication du jambon cuit. Les effets portent notamment sur la solubilité des protéines, leur état de dénaturation exprimé par l'enthalpie totale de dénaturation. Les traitements n'ont pas d'effet immédiat sur l'état des protéines, mais les effets sont constatés plutôt lors du stockage.

Ainsi, tous les traitements induisent la dénaturation des protéines au cours du stockage réfrigéré. Cela se traduit d'une part par la perte de solubilité des protéines et d'autre part par la diminution de l'enthalpie totale de dénaturation. En effet, ces deux paramètres sont fortement corrélés ($r = 0,602, p < 0,0001$). Cependant, les différentes fractions protéiques ne sont pas impactées de la même façon. Le traitement par hautes pressions induit une dénaturation complète des protéines myofibrillaires à la fin du stockage réfrigéré tandis que les protéines myofibrillaires sont résistantes à l'ajout de bactéries lactiques. Lorsque les deux traitements

sont combinés, les protéines myofibrillaires sont complètement dénaturées dès les premiers jours de stockage réfrigéré. Cependant, une fraction de protéines sarcoplasmiques et de collagène est observée à la fin du stockage quel que soit le traitement appliqué.

Ces changements au niveau des protéines impactent moyennement et/ou fortement les propriétés technologiques du jambon cuit notamment la texture (dureté et cohésion), la capacité de rétention d'eau et l'exsudation. Ainsi, la CRE et l'exsudation, qui sont des paramètres fortement liés, sont corrélés à la solubilité des protéines (respectivement $r = 0,396$ et $r = -3,380$). La dureté et la cohésion sont corrélées à l'enthalpie de dénaturation, la solubilité des protéines et la teneur en carbonyles.

Parmi les changements physico-chimiques induits par les traitements, l'oxydation des lipides et des protéines a également été évaluée. L'évaluation de la teneur en composés carbonylés et la diminution en groupements sulfhydryles ont permis d'évaluer l'oxydation des protéines. Les hautes pressions n'ont pas d'effet sur la production de composés carbonylés et n'induisent donc pas d'oxydation protéique supplémentaire dans le jambon cuit. Par contre, la biopréservation et le traitement combiné conduisent à une augmentation de ces composés à la fin du stockage. L'ajout de bactéries bioprotectrices induit donc une oxydation des protéines lors du stockage réfrigéré notamment à cause de l'activité protéolytique des bactéries lactiques qui expose les protéines aux composés prooxydants. Le dosage des teneurs en thiols libres et accessibles indique que les traitements conduiraient également à la formation d'autres produits d'oxydation protéique.

Le dosage des composés d'oxydation lipidique montre que les hautes pressions combinées ou non à la biopréservation provoquent l'oxydation des lipides au cours du stockage réfrigéré. Ceci serait dû au relargage de fer par la pression à partir des compartiments de l'hème. Ainsi, une forte corrélation du fer libre avec les indicateurs d'oxydation lipidiques MDA ($r = 0,634$, $p < 0,05$) et TBARS ($r = 0,644$, $p < 0,05$) est observée. L'effet du traitement combiné sur l'oxydation lipidique est plus conséquent à cause de la probable activité lypolitique de *L. lactis* qui conduit à accumulation d'acides gras libres dans le milieu, qui sont plus facilement attaqués par les pro-oxydants comme le fer relargué par la pression.

Impact des traitements sur les propriétés nutritionnelles

Enfin, d'un point de vue nutritionnel, le traitement par hautes pressions tend à ralentir la digestion des protéines. La dénaturation des protéines a conduit à la formation d'agrégats et au masquage des sites de clivage spécifiques des enzymes de digestion. Par contre, la biopréservation combinée ou non aux hautes pressions tend à améliorer la digestion des protéines grâce à l'activité protéolytique de *L. lactis*. L'utilisation de la biopréservation pourrait donc être intéressante pour améliorer la cinétique de digestion qui conditionne l'efficacité postprandiale des protéines alimentaires. Particulièrement, chez les personnes âgées souffrant de sarcopénie (fonte musculaire), la consommation de produits carnés biopréservés permettrait la digestion rapide des protéines pour obtenir une meilleure utilisation postprandiale des acides aminés alimentaires pour la synthèse des protéines corporelles.

Cette étude a donc montré que le traitement par hautes pressions permet d'assurer la sécurité microbiologique et de maintenir les qualités sensorielles du jambon cuit. La combinaison des hautes pressions et de la biopréservation permet d'obtenir un jambon cuit à teneur réduite en nitrite proche du jambon cuit traditionnel, puisque ce traitement a un effet modéré sur les propriétés technologiques du jambon cuit et un effet faible sur l'oxydation des protéines et des lipides. Ce procédé pourrait également être intéressant du point de vue nutritionnel et apporter une valeur ajoutée au jambon cuit notamment en améliorant la digestibilité des protéines.

Toutefois, cette étude soulève plusieurs questions qui méritent des études plus approfondies notamment l'identification des différentes fractions volatiles qui confèrent les odeurs décrites par les juges lors de l'analyse sensorielle. De plus, des analyses sensorielles du goût et de l'aspect ainsi qu'un test de préférence complèteraient les premiers résultats obtenus. Concernant les phénomènes d'oxydation, le dosage des autres formes de fer (fer héminique et fer total) pourrait également être effectué afin d'évaluer l'impact des différents traitements sur le jambon cuit et également d'évaluer l'implication des différentes formes du fer dans les phénomènes d'oxydation. Comme le traitement combiné semble provoquer l'oxydation des lipides, il serait intéressant de le tester sur d'autres produits plus riches en lipides (par exemple les lardons, le saumon ou le foie gras) et en acides gras insaturés. Enfin, un protocole de digestion plus élaboré pourrait être envisagé notamment l'ajout d'une phase de mastication qui est un paramètre important dans la digestion des protéines, ou encore l'utilisation simultanée de plusieurs enzymes surtout lors de la phase intestinale pour se rapprocher davantage le plus des conditions réelles de digestion. Une digestion *in vivo* pourrait également être envisagée. L'étude de l'hydrophobie de surface des protéines pourrait également expliquer les phénomènes d'agrégation et d'oxydation qui semblent interférer dans l'action des enzymes digestives. Une identification des acides aminés issus de la digestion serait également intéressante, afin de comprendre le mécanisme protéolytique induit par les différents traitements.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFSSA (2010a). Avis de l'AFSSA concernant les traitements par hautes pressions hydrostatiques sur des aliments emballés. ANSES, Maisons-Alfort, Saisine n°2010-SA-0193
- AFSSA (2010b). Avis de l'AFSSA relatif à l'évaluation de l'impact d'un traitement de pascalisation (hautes pressions) sur des plats cuisinés. Maisons-Alfort, Saisine n°2009-SA-0204
- Ahn, D. U., Mendonça, A. F., & Feng, X. (2017). The Storage and Preservation of Meat. In *Lawrie's Meat Science* (p. 231-263). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100694-8.00008-X>
- Akbar, A., & Anal, A. K. (2014). Occurrence of *Staphylococcus aureus* and evaluation of anti-staphylococcal activity of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* in ready-to-eat poultry meat. *Annals of Microbiology*, *64*(1), 131-138. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0641-x>
- Aktaş, N. (2003). The effects of pH, NaCl and CaCl₂ on thermal denaturation characteristics of intramuscular connective tissue. *Thermochimica Acta*, *407*(1-2), 105-112. [https://doi.org/10.1016/S0040-6031\(03\)00306-X](https://doi.org/10.1016/S0040-6031(03)00306-X)
- Alam, P., Siddiqi, K., Chturvedi, S. K., & Khan, R. H. (2017). Protein aggregation: From background to inhibition strategies. *International Journal of Biological Macromolecules*, *103*, 208-219. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.048>
- Albarracín, W., Sánchez, I. C., Grau, R., & Barat, J. M. (2011). Salt in food processing; usage and reduction: a review: Salt in food processing; usage and reduction. *International Journal of Food Science & Technology*, *46*(7), 1329-1336. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02492.x>
- Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E., & Chevallier, I. (2006). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility. *Food Control*, *17*(6), 454-461. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.02.006>
- Ananou, S., Garriga, M., Jofré, A., Aymerich, T., Gálvez, A., Maqueda, M., Martinez-Bueno, M. & Valdivia, E. (2010). Combined effect of enterocin AS-48 and high hydrostatic pressure to control food-borne pathogens inoculated in low acid fermented sausages. *Meat Science*, *84*(4), 594-600. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.10.017>
- Andrée, S., Jira, W., Schwind, K.-H., Wagner, H., & Schwägele, F. (2010). Chemical safety of meat and meat products. *Meat Science*, *86*(1), 38-48. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.020>
- Andrés, A.I., Adamsen, C.E., Møller, J.K.S., Ruiz, J. & Skibsted, L. H. (2006). High-pressure treatment of dry-cured Iberian ham. Effect on colour and oxidative stability during chill storage packed in modified atmosphere. *European Food Research and Technology*, *222*(5-6), 486-491. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0176-x>
- Arnau Arboix, J. (2014). Ham production | Cooked Ham. In *Encyclopedia of Meat Sciences* (p. 82-86). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00226-9>
- Arnaud, C. (2017) Élaboration d'aliments nouveaux par hautes pressions : étude technique et juridique. Thèse de doctorat. Université de Nantes
- Aryee, A. N. A., Agyei, D., & Udenigwe, C. C. (2018). Impact of processing on the chemistry and functionality of food proteins. In *Proteins in Food Processing* (p. 27-45). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100722-8.00003-6>

- Astruc, T. (2018). Analyse multi-échelle des produits carnés par imageries multimodale et multispectrale. *Techniques de l'ingénieur*. F4030 V1
- Audenaert, K., D'Haene, K., Messens, K., Ruysen, T., Vandamme, P., & Huys, G. (2010). Diversity of lactic acid bacteria from modified atmosphere packaged sliced cooked meat products at sell-by date assessed by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Food Microbiology*, 27(1), 12-18. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.04.006>
- Ávila, M., Calzada, J., Garde, S., & Nuñez, M. (2007). Effect of a bacteriocin-producing *Lactococcus lactis* strain and high-pressure treatment on the esterase activity and free fatty acids in Hispánico cheese. *International Dairy Journal*, 17(12), 1415-1423. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.04.004>
- Axelsson L. & Ahrné S. (2000) Lactic Acid Bacteria. In: Priest F.G., Goodfellow M. (eds) *Applied Microbial Systematics*. Springer, Dordrecht
- Aymerich, T., Garriga, M., Ylla, J., Vallier, J., Monfort, J. M., & Hugas, M. (2000). Application of Enterocins as Biopreservatives against *Listeria innocua* in Meat Products. *Journal of Food Protection*, 63(6), 721-726. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.6.721>
- Bajovic, B., Bolumar, T., & Heinz, V. (2012). Quality considerations with high pressure processing of fresh and value added meat products. *Meat Science*, 92(3), 280-289. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.04.024>
- Baldwin, D. E. (2012). Sous vide cooking: A review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 1(1), 15-30. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2011.11.002>
- Balny, C., & Masson, P. (1993). Effects of high pressure on proteins. *Food Reviews International*, 9(4), 611-628. <https://doi.org/10.1080/87559129309540980>
- Barreto, G., Carballo, J., Fernandez-Martin, F., & Jiménez Colmenero, F. (1996). Thermal gelation of meat batters as a function of type and level of fat and protein content. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 202(3), 211-214. <https://doi.org/10.1007/BF01263542>
- Bastide, M. N., Pierre, F. H. F. & Corbet, D. E. (2011). Heme iron from meat and risk of colorectal cancer: a meta-analysis and a review of the mechanisms involved. *American Association for Cancer Research*, 4(2). 177-184. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-10-0113>
- Bax, M.-L. (2012). Impact des procédés de transformation sur le devenir digestif des protéines de la viande. Thèse de doctorat. Université d'Auvergne
- Bendall, J. R. (1962), Some Aspects of the Denaturation of Proteins of Meat, Abstracts of Papers, 1st *International Congress of Food Science and Technology*, London.
- Benet, I., Guàrdia, M. D., Ibañez, C., Solà, J., Arnau, J., & Roura, E. (2016). Low intramuscular fat (but high in PUFA) content in cooked cured pork ham decreased Maillard reaction volatiles and pleasing aroma attributes. *Food Chemistry*, 196, 76-82. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.026>
- Benet, I., Guàrdia, M. D., Ibañez, C., Solà, J., Arnau, J., & Roura, E. (2015). Analysis of SPME or SBSE extracted volatile compounds from cooked cured pork ham differing in intramuscular fat profiles. *LWT - Food Science and Technology*, 60(1), 393-399. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.016>
- Bergamaschi, M., & Pizza, A. (2011). Effect of pork meat pH on iron release from heme molecule during cooking. *Journal of Life Science*, 5, 376-380.
- Bohn, T., Carriere, F., Day, L., Deglaire, A., Egger, L., Freitas, D., Golding, M., Le Feunteun, S., Macierzanka, A., Menard, O., Miralles, B., Moscovici, A., Portamnn, R., Recio, I., Rémond, D., Santé-

- Louthelier, V., Wooster, T.J., Lesmes, U., Mackie, A.R. & Dupont, D. (2017). Correlation between in vitro and in vivo data on food digestion. What can we predict with static in vitro digestion models? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-23. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1315362>
- Boland, M., Kaur, L., Chian, F.M. & Astruc, T. (2018). Muscle proteins. *In: Varelis, P., Melton, L. & Shahidi, F. (Eds). Encyclopedia of food chemistry*. 1. 164-180. Elsevier
- Bolumar, T., Andersen, M. L., & Orlie, V. (2014). Mechanisms of radical formation in beef and chicken meat during high pressure processing evaluated by electron spin resonance detection and the addition of antioxidants. *Food Chemistry*, 150, 422-428. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.161>
- Borch, E., Berg, H., Holst, O. (1991). Heterolactic fermentation by a homofermentative *Lactobacillus* sp. during glucose limitation in anaerobic continuous culture with complete cell recycle. *Journal of Applied Bacteriology* 71, 265– 269.
- Borch, E., Kant-Muermans, M.-L., & Blixt, Y. (1996). Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 33(1), 103-120. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(96\)01135-X](https://doi.org/10.1016/0168-1605(96)01135-X)
- Bourdichon, F., Casaregola, S., Farrok, C., Frisvad, J. C., Gerds, M. L., Hammes, W. P., Harnett, J., Huys, G., Laulund, S., Ouwehand, A., Powell, I. B., Prajapati, I. B., Seto, Y., Schure, F. T., Van Boven, A., Vankerckhoven, A. Z., Tuijelaars, S & Hansen, E. B. (2012). Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use. *International Journal of Food Microbiology*, 154(3), 87-97. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.030>
- Bourne, M. C. (1978). Texture Profile Analysis. *Food Technology*, 32(7), 62–66, 72.
- Boutten, B., & Guillard, A.-S. (2006). La fabrication du jambon cuit supérieur comme modèle pour étudier l'impact des procédés sur les caractéristiques nutritionnelles des aliments, *CTSCCV (15)1/2*
- Bouvard, V., Loomis, D., Guyton, K. Z., Grosse, Y., Ghissassi, F. E., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Mattock, H. & Straif, K. (2015). Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *The Lancet Oncology*, 16(16), 1599-1600. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)00444-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)00444-1)
- Bravo, D., de Alba, M., & Medina, M. (2014). Combined treatments of high-pressure with the lactoperoxidase system or lactoferrin on the inactivation of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* O157: H7 in beef carpaccio. *Food Microbiology*, 41, 27-32. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.043>
- Brillet, A., Pilet, M.-F., Prevost, H., Cardinal, M., & Leroi, F. (2005). Effect of inoculation of *Carnobacterium divergens* V41, a biopreservative strain against *Listeria monocytogenes* risk, on the microbiological, chemical and sensory quality of cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology*, 104(3), 309-324. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.012>
- Brodeur, J. et Toussaint, M. (2007). *Biologie moléculaire : Concepts, techniques et applications*. CCDMD. Montréal.
- Brunton, N. P., Lyng, J. G., Zhang, L., & Jacquier, J. C. (2006). The use of dielectric properties and other physical analyses for assessing protein denaturation in beef biceps femoris muscle during cooking from 5 to 85°C. *Meat Science*, 72(2), 236-244. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.07.007>
- Burton, G.W. (1990). Vitamin E: Antioxidant Activity, Biokinetics, and Bioavailability. *Annual Review of Nutrition*, 10, 357-382.
- Campus, M. (2010). High Pressure Processing of Meat, Meat Products and Seafood. *Food Engineering Reviews*, 2(4), 256-273. <https://doi.org/10.1007/s12393-010-9028-y>

- Campus, M., Flores, M., Martínez, A. & Toldrá, F. (2008). Effect of high pressure treatment on colour, microbial and chemical characteristics of dry cured loin. *Meat Science*, 80(4), 1174-1181. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.05.011>
- Candogan, K., Wardlaw, F. B., & Acton, J. C. (2009). Effect of starter culture on proteolytic changes during processing of fermented beef sausages. *Food Chemistry*, 116(3), 731-737. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.065>
- Caplice, E. (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50(1-2), 131-149. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00082-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00082-3)
- Carlez, A., Veciana-Nogues, T., & Cheftel, J.-C. (1995). Changes in Colour and Myoglobin of Minced Beef Meat Due to High Pressure Processing. *LWT - Food Science and Technology*, 28(5), 528-538. <https://doi.org/10.1006/fstl.1995.0088>
- Castellano, P., & Vignolo, G. (2006). Inhibition of *Listeria innocua* and *Brochothrix thermosphacta* in vacuum-packaged meat by addition of bacteriocinogenic *Lactobacillus curvatus* CRL705 and its bacteriocins. *Letters in Applied Microbiology*, 43(2), 194-199. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.01933.x>
- Castellano, P., González, C., Carduza, F., & Vignolo, G. (2010). Protective action of *Lactobacillus curvatus* CRL705 on vacuum-packaged raw beef. Effect on sensory and structural characteristics. *Meat Science*, 85(3), 394-401. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.02.007>
- Castellano, P., Pérez Ibarreche, M., Blanco Massani, M., Fontana, C., & Vignolo, G. (2017). Strategies for Pathogen Biocontrol Using Lactic Acid Bacteria and Their Metabolites: A Focus on Meat Ecosystems and Industrial Environments. *Microorganisms*, 5(3), 38. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5030038>
- Castro, S. M., Kolomeytseva, M., Casquete, R., Silva, J., Queirós, R., Saraiva, J. A., & Teixeira, P. (2017). Biopreservation strategies in combination with mild high pressure treatments in traditional Portuguese ready-to-eat meat sausage. *Food Bioscience*, 19, 65-72. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.05.008>
- Cava, R., Ladero, L., González, S., Carrasco, A., & Ramírez, M. R. (2009). Effect of pressure and holding time on colour, protein and lipid oxidation of sliced dry-cured Iberian ham and loin during refrigerated storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(1), 76-81. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.09.005>
- Cavanagh, D., Fitzgerald, G. F., & McAuliffe, O. (2015). From field to fermentation: The origins of *Lactococcus lactis* and its domestication to the dairy environment. *Food Microbiology*, 47, 45-61. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.001>
- Chaillou, S., Chaulot-Talmon, A., Caekebeke, H., Cardinal, M., Christeians, S., Denis, C., Desmonts, M.H., Dousset, X., Feurer, C., Hamon, E., Jouffraud, J.J., La Carbona, S., Leroi, F., Leroy, S., Lorre, S., Macé, S., Pilet, M.-F., Prévost, H., Rivollier, M., Roux, D., Talon, R., Zagorec, M. & Champomier-Vergès, M.-C. (2015). Origin and ecological selection of core and food-specific bacterial communities associated with meat and seafood spoilage. *The ISME Journal*, 9(5), 1105-1118. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.202>
- Chaillou, S., Christeians, S., Rivollier, M., Lucquin, I., Champomier-Vergès, M. C., & Zagorec, M. (2014). Quantification and efficiency of *Lactobacillus sakei* strain mixtures used as protective cultures in ground beef. *Meat Science*, 97(3), 332-338. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.08.009>
- Chakravorty, S., Helb, D., Burday, M., Connell, N., & Alland, D. (2007). A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 69(2), 330-339. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.02.005>

- Chapleau, N., Delépine, S. & de Lamballerie, M. (2002). Effect of pressure treatment on hydrophobicity and SH groups interactions of myofibrillar proteins, *Progress in Biotechnology*, 19, 55-62. [https://doi.org/10.1016/S0921-0423\(02\)80079-X](https://doi.org/10.1016/S0921-0423(02)80079-X)
- Chapleau, N., Mangavel, C., Compoint, J.-P., & de Lamballerie-Anton, M. (2004). Effect of high-pressure processing on myofibrillar protein structure. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(1), 66-74. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1613>
- Charlier, C., Cretenet, M., Even, S., & Le Loir, Y. (2009). Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: An old story with new perspectives. *International Journal of Food Microbiology*, 131(1), 30-39. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.06.032>
- Cheftel, J. C. (1995). Review: High-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Science and Technology International*, 1(2-3), 75-90. <https://doi.org/10.1177/108201329500100203>
- Cheftel, J.C. & Culioli, J. (1997). Effect of high pressure on meat - A review. *Meat Science* (46)3, 211-236.
- Chen, H. (2007). Temperature-assisted pressure inactivation of *Listeria monocytogenes* in Turkey breast meat. *International Journal of Food Microbiology*, 117(1), 55-60. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.02.025>
- Chen, Q., Kong, B., Sun, Q., Dong, F., & Liu, Q. (2015). Antioxidant potential of a unique LAB culture isolated from Harbin dry sausage: In vitro and in a sausage model. *Meat Science*, 110, 180-188. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.07.021>
- Chen, Q., Kong, B., Han, Q., Liu, Q., & Xu, L. (2016). The role of bacterial fermentation in the hydrolysis and oxidation of sarcoplasmic and myofibrillar proteins in Harbin dry sausages. *Meat Science*, 121, 196-206. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.06.012>
- Chen, Q., Kong, B., Han, Q., Xia, X., & Xu, L. (2017). The role of bacterial fermentation in lipolysis and lipid oxidation in Harbin dry sausages and its flavour development. *LWT*, 77, 389-396. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.075>
- Chen, X., Xu, X., Liu, D., Zhou, G., Han, M., & Wang, P. (2018). Rheological behavior, conformational changes and interactions of water-soluble myofibrillar protein during heating. *Food Hydrocolloids*, 77, 524-533. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.10.030>
- Cheng, Q., & Sun, D.-W. (2005). Application of PLSR in correlating physical and chemical properties of pork ham with different cooling methods. *Meat Science*, 70(4), 691-698. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.03.004>
- Cheng, J. H. (2016). Lipid Oxidation in Meat. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 6(3), 1-3. <https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000494>
- Cheung, P. C. K., & Mehta, B. M. (Éds.). (2015). *Handbook of Food Chemistry*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. Consulté à l'adresse <http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-36605-5>
- Christensen, L., Bertram, H. C., Aaslyng, M. D., & Christensen, M. (2011). Protein denaturation and water-protein interactions as affected by low temperature long time treatment of porcine *Longissimus dorsi*. *Meat Science*, 88(4), 718-722. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.03.002>
- Clariana, M., Guerrero, L., Sárraga, C., Díaz, I., Valero, Á. & García-Regueiro, J. A. (2011). Influence of high pressure application on the nutritional, sensory and microbiological characteristics of sliced skin vacuum packed dry-cured ham, Effects along the storage period, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(4), 456-465, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.12.008>

- Cohen, J. (1988). *Statistical power for the behavioral sciences* (2^{ème} édition). New York: Academic Press.
- Collins, Y. F., McSweeney, P. L., & Wilkinson, M. G. (2003). Evidence of a relationship between autolysis of starter bacteria and lipolysis in Cheddar cheese during ripening. *Journal of Dairy Research*, 70(1), 105-113. <https://doi.org/10.1017/S0022029902005915>
- Comfort, S., & Howell, N. K. (2003). Gelation properties of salt soluble meat protein and soluble wheat protein mixtures. *Food Hydrocolloids*, 17(2), 149-159. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(02\)00047-4](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(02)00047-4)
- Comi, G., & Iacumin, L. (2012). Identification and process origin of bacteria responsible for cavities and volatile off-flavour compounds in artisan cooked ham: Spoilage of cooked ham. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(1), 114-121. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02816.x>
- Comi, G., Andyanto, D., Manzano, M., & Iacumin, L. (2016). *Lactococcus lactis* and *Lactobacillus sakei* as bio-protective culture to eliminate *Leuconostoc mesenteroides* spoilage and improve the shelf life and sensorial characteristics of commercial cooked bacon. *Food Microbiology*, 58, 16-22. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.03.001>
- Crehan, C. M., Troy, D. J., & Buckley, D. J. (2000). Effects of salt level and high hydrostatic pressure processing on frankfurters formulated with 1.5 and 2.5% salt. *Meat Science*, 8. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(99\)00134-5](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00134-5)
- Curioni, P. M. G., & Bosset, J. O. (2002). Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. *International Dairy Journal*, 12(12), 959-984. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00124-3](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00124-3)
- Dangin, M., Guillet, C., Garcia-Rodenas, C., Gachon, P., Bouteloup-Demange, C., Reiffers-Magnani, K., Fauquant, J., Ballèvre, O. & Beaufrère, B. (2003). The Rate of Protein Digestion affects Protein Gain Differently during Aging in Humans. *The Journal of Physiology*, 549(2), 635-644. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.036897>
- Daryaei, H., & Balasubramaniam, V. M. (2013). Kinetics of *Bacillus coagulans* spore inactivation in tomato juice by combined pressure-heat treatment. *Food Control*, 30(1), 168-175. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.06.031>
- Daryaei, H., Yousef, A. E., & Balasubramaniam, V. M. (2016). Microbiological Aspects of High-Pressure Processing of Food: Inactivation of Microbial Vegetative Cells and Spores. In V. M. Balasubramaniam, G. V. Barbosa-Cánovas & H. L. Lelieveld M. (Éds.), *High Pressure Processing of Food* (p. 271-294). New York, NY: Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3234-4_14
- de Alba, M., Bravo, D., & Medina, M. (2013). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in dry-cured ham by high-pressure treatments combined with biopreservatives. *Food Control*, 31(2), 508-513. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.043>
- De Vuyst L., Vandamme E.J. (1994) Antimicrobial Potential of Lactic Acid Bacteria. In L. De Vuyst, E. J. Vandamme (Eds) *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*. Boston: Springer.
- Desmond, E. (2006). Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Science*, 74(1), 188-196. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.014>
- Di Gioia, D., Mazzola, G., Nikodinoska, I., Aloisio, I., Langerholc, T., Rossi, M., Raimondi, S., Melero, B. & Rovira, J. (2016). Lactic acid bacteria as protective cultures in fermented pork meat to prevent *Clostridium spp.* growth. *International Journal of Food Microbiology*, 235, 53-59. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.06.019>

- Diez, A. M., Santos, E. M., Jaime, I., & Rovira, J. (2008). Application of organic acid salts and high-pressure treatments to improve the preservation of blood sausage. *Food Microbiology*, 25(1), 154-161. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.06.004>
- Dortu, C. & Thonart, P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires, *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. 13(1). 144-15.
- Dupont, D., & Mackie, A. R. (2015). Static and dynamic in vitro digestion models to study protein stability in the gastrointestinal tract. *Drug Discovery Today: Disease Models*, 17-18, 23-27. <https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2016.06.002>
- Durantou, F., Simonin, H., Chéret, R., Guillou, S., & de Lamballerie, M. (2012a), Effect of High Pressure and Salt on Pork Meat Quality and Microstructure, *Journal of Food Science*, 77(8), E188-E194, <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02816.x>
- Durantou, F., Guillou, S., Simonin, H., Chéret, R., & de Lamballerie, M. (2012b). Combined use of high pressure and salt or sodium nitrite to control the growth of endogenous microflora in raw pork meat. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 16, 373-380. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.08.004>
- Dušková, M., Kameník, J., Lačanin, I., Šedo, O., & Zdráhal, Z. (2016). Lactic acid bacteria in cooked hams – Sources of contamination and chances of survival in the product. *Food Control*, 61, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.09.019>
- Dykes, G. A., Moorhead, S. M., & Roberts, S. L. (2001). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on chill-stored vacuum or carbon dioxide packaged primal beef cuts. *International Journal of Food Microbiology*, 64(3), 401-405. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00482-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00482-7)
- EFFCA (2015). *Definition of food culture*. EFFCA/15/09. Bruxelles. www.effca.org. Page consulté le 11 Septembre 2018
- EFSA (2007). Introduction of a Qualified Presumption of Safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA - Opinion of the Scientific Committee: Introduction of a Qualified Presumption of Safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA. *EFSA Journal*, 5(12), 587. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2007.587>
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) (2018). Update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 7: suitability of taxonomic units notified to EFSA until September 2017. *EFSA Journal*, 16(1). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5131>
- Eisenmenger, M. J., & Reyes-De-Corcuera, J. I. (2009). High pressure enhancement of enzymes: A review. *Enzyme and Microbial Technology*, 45(5), 331-347. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2009.08.001>
- El-Soda, M., Madkor, S. A., & Tong, P. S. (1999). Evaluation of commercial adjuncts for use in cheese ripening: 3. Properties of heat-shocked adjuncts in buffer and cheese slurry systems. *Milchwissenschaft*, 54 (5). 262-264.
- Erickson, M.C. (2002). Lipid Oxidation of Muscle Foods. In Akoh, C.C. & Min, D.B. (éds) *Food lipids*. Marcel Dekker, Inc
- Ertbjerg, P., Christiansen, L. S., Pedersen, A. B., & Kristensen, L. (2012). The effect of temperature and time on activity of calpain and lysosomal enzymes and degradation of desmin in porcine longissimus muscle. Proceedings 58th International Congress of Meat Science & Technology Montreal, Canada, p. 358.

- Escriu, R., & Mor-Mur, M. (2009). Role of quantity and quality of fat in meat models inoculated with *Listeria innocua* or *Salmonella Typhimurium* treated by high pressure and refrigerated stored. *Food Microbiology*, 26(8), 834-840. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.05.011>
- Estévez, M. (2011). Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Science*, 89(3), 259-279. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.025>
- Evelyn, & Silva, F. V. M. (2016). High pressure thermal processing for the inactivation of *Clostridium perfringens* spores in beef slurry. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 33, 26-31. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.12.021>
- Evelyn, Milani, E., & Silva, F. V. M. (2017). Comparing high pressure thermal processing and thermosonication with thermal processing for the inactivation of bacteria, moulds, and yeasts spores in foods. *Journal of Food Engineering*, 214, 90-96. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.06.027>
- Farkas, D. F. (2016). A Short History of Research and Development Efforts Leading to the Commercialization of High-Pressure Processing of Food. In V. M. Balasubramaniam, G. V. Barbosa-Cánovas, & H. L. M. Lelieveld (Éds), *High Pressure Processing of Food* (p. 19-36). New York, NY: Springer New York.
- Fernández-Martín, F., Fernández, P., Carballo, J., & Jiménez Colmenero, F. (1997). Pressure/heat combinations on pork meat batters: protein thermal behavior and product rheological properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(11), 4440-4445. <https://doi.org/10.1021/jf9702297>
- FICT. (2017). Production industrielle française 2017. Charcuterie - Salaisons - Plats cuisinés - Produits traiteurs - Conserves de viande. Disponible sur <http://www.fict.fr/>, consultation le 04.09.2018
- Fischer, C., Hamm, R., & Honikel, K. O. (1979). Changes in solubility and enzymic activity of muscle glycogen phosphorylase in PSE-muscles. *Meat Science*, 3(1), 11-19. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(79\)90020-2](https://doi.org/10.1016/0309-1740(79)90020-2)
- Flahaut, N. A. L., Wiersma, A., van de Bunt, B., Martens, D. E., Schaap, P. J., Sijtsma, L., dos Santos, V. A. M. & de Vos, W. M. (2013). Genome-scale metabolic model for *Lactococcus lactis* MG1363 and its application to the analysis of flavor formation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(19), 8729-8739. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5140-2>
- Flores, M., & Toldrá, F. (2011). Microbial enzymatic activities for improved fermented meats. *Trends in Food Science & Technology*, 22(2-3), 81-90. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.09.007>
- Foegeding, E. A., & Davis, J. P. (2011). Food protein functionality: A comprehensive approach. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1853-1864. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.05.008>
- Frankel, E.N. (Ed.) (2005). Lipid oxidation (2nd ed). *The Oil Press*. Bridgwater, Royaume-Uni.
- Fuentes, V., Ventanas, J., Morcuende, D., Estévez, M., & Ventanas, S. (2010). Lipid and protein oxidation and sensory properties of vacuum-packaged dry-cured ham subjected to high hydrostatic pressure. *Meat science*, 85(3), 506–514.
- Gade, C. R., Dixit, M., & Sharma, N. K. (2016). Dideoxy nucleoside triphosphate (ddNTP) analogues: Synthesis and polymerase substrate activities of pyrrolidinyl nucleoside triphosphates (prNTPs). *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 24(18), 4016-4022. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.06.043>
- Gálvez, A., Abriouel, H., López, R. L., & Omar, N. B. (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 120(1-2), 51-70. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.001>

- Gänzle, M. G. (2015). Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Current Opinion in Food Science*, 2, 106-117. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.03.001>
- Gao, Y., Li, D., & Liu, X. (2014). Bacteriocin-producing *Lactobacillus sakei* C2 as starter culture in fermented sausages. *Food Control*, 35(1), 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.055>
- Garcia, M. N., Martinez-Torres, C., Leets, I., Tropper, E., Ramirez, J., & Layrisse, M. (1996). Heat treatment on heme iron and iron-containing proteins in meat: Iron absorption in humans from diets containing cooked meat fractions. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 7(1), 49-54. [https://doi.org/10.1016/0955-2863\(95\)00166-2](https://doi.org/10.1016/0955-2863(95)00166-2)
- Garcia-Gil, N., Santos-Garcés, E., Fulladosa, E., Laverse, J., Del Nobile, M.A. & Gou, P. (2014). High pressure induces changes in texture and microstructure of muscles in dry-cured hams. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 22, 63-69. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.01.004>
- Garriga, M., Grèbol, N., Aymerich, M. T., Monfort, J. M., & Hugas, M. (2004). Microbial inactivation after high-pressure processing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf life. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(4), 451-457. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2004.07.001>
- Garry, P., & Delingue, V. (2011). Définition de durées de vie indicatives pour des produits dans le cadre des activités artisanales de charcutier-traiteur, traiteur organisateur de réception. Rapport d'étude IFIP. Disponible sur <https://ifip.asso.fr>, consultation le 10.09.2018
- Gatellier, P., & Santé-Lhoutellier, V. (2009). Digestion study of proteins from cooked meat using an enzymatic microreactor. *Meat Science*, 81(2), 405-409. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.09.002>
- Gatellier, P., Kondjoyan, A., Portanguen, S., & Santé-Lhoutellier, V. (2010). Effect of cooking on protein oxidation in n-3 polyunsaturated fatty acids enriched beef. Implication on nutritional quality. *Meat Science*, 85(4), 645-650. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.03.018>
- Gault, N. F. S. (1985). The relationship between water-holding capacity and cooked meat tenderness in some beef muscles as influenced by acidic conditions below the ultimate pH. *Meat Science*, 15, 15-30.
- Gekko, K., & Koga, S. (1983). The Effect of Pressure on Thermal Stability and *In Vitro* Fibril Formation of Collagen. *Agricultural and Biological Chemistry*, 47(5), 1027-1033. <https://doi.org/10.1080/00021369.1983.10865766>
- Gill, A., & Ramaswamy, H.O. (2008). Application of high pressure processing to kill *Escherichia coli* O157 in ready-to-eat meats. *Journal of Food Protection*, 71(11), 2182-2189. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.11.2182>
- Gokalp, H. Y., Ockerman, H. W., Plimpton, R. F., & Harper, W. J. (1983). Fatty Acids of Neutral and Phospholipids, Rancidity Scores and TBA Values as Influenced by Packaging and Storage. *Journal of Food Science*, 48(3), 829-834. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1983.tb14910.x>
- Gola, S., Foman, C., Carpi, G., Maggi, A., Cassaà, A., & Rovere, P. (1996). Inactivation of bacterial spores in phosphate buffer and in vegetable cream treated with high pressures. In *Progress in Biotechnology* (Vol. 13, p. 253-259). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0921-0423\(06\)80044-4](https://doi.org/10.1016/S0921-0423(06)80044-4)
- Gornall, A. G., Bardawill, C. J. & David, M. M. (1949) Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of biological chemistry*, 177, 751-766.
- Goutefongea, R., Rampon, V., Nicolas, N. & Dumont, J. P. (1995). Meat color changes under high pressure treatment. *American Meat Science Association* (Eds.) 41st ICoMST. II. 384-385

- Grauwet, T., Van der Plancken, L., Vervoort, L., Hendrickx, M. & Loey, A. V. (2016). High pressure processing uniformity. In V. M. Balasubramaniam, G. V. Barbosa-Cánovas & H. L. M. Lelieveld (Éds.), *High Pressure Processing of Food*. (p 253-268). New York, NY: Springer
- Gravelle, A. J., Marangoni, A. G., & Barbut, S. (2016). Insight into the mechanism of myofibrillar protein gel stability: Influencing texture and microstructure using a model hydrophilic filler. *Food Hydrocolloids*, *60*, 415-424. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.04.014>
- Grosse, Y., Baan, R., Straif, K., Secretan, B., El Ghissassi, F., & Coglianò, V. (2006). Carcinogenicity of nitrate, nitrite, and cyanobacterial peptide toxins. *The Lancet Oncology*, *7*(8), 628-629. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(06\)70789-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(06)70789-6)
- Grossi, A., Bolumar, T., Søltøft-Jensen, J., & Orlien, V. (2014). High pressure treatment of brine enhanced pork semitendinosus: Effect on microbial stability, drip loss, lipid and protein oxidation, and sensory properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *22*, 11-21, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.09.011>
- Grossi, A., Olsen, K., Bolumar, T., Rinnan, Å., Øgendal, L. H., & Orlien, V. (2016). The effect of high pressure on the functional properties of pork myofibrillar proteins. *Food Chemistry*, *196*, 1005-1015. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.062>
- Groth Laursen, B., Bay, L., Cleenwerck, I., Vancanneyt, M., Swings, J., Dalgaard, P., & Leisner, J. J. (2005). *Carnobacterium divergens* and *Carnobacterium maltaromaticum* as spoilers or protective cultures in meat and seafood: phenotypic and genotypic characterization. *Systematic and Applied Microbiology*, *28*(2), 151-164. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2004.12.001>
- Grunert, K. G., Verbeke, W., Kügler, J. O., Saeed, F., & Scholderer, J. (2011). Use of consumer insight in the new product development process in the meat sector. *Meat Science*, *89*(3), 251-258. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.024>
- Guerra, A., Etienne-Mesmin, L., Livrelli, V., Denis, S., Blanquet-Diot, S., & Alric, M. (2012). Relevance and challenges in modeling human gastric and small intestinal digestion. *Trends in Biotechnology*, *30*(11), 591-600. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.08.001>
- Guillevic, M., Kouba, M., & Mourot, J. (2009). Effect of a linseed diet on lipid composition, lipid peroxidation and consumer evaluation of French fresh and cooked pork meats. *Meat Science*, *81*(4), 612-618. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.10.019>
- Guinane, C. M., Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2005). Microbial solutions to microbial problems; lactococcal bacteriocins for the control of undesirable biota in food. *Journal of Applied Microbiology*, *98*(6), 1316-1325. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02552.x>
- Guintard, C., Betti, E., Boutten, B., Nictou, A., Chatellier, S. & Daumas, G. (2004). L'anatomie du muscle fessier superficiel chez le porc : intérêt en charcuterie. Bulletin de liaison du CTSCCV, *14*(1). 15-23.
- Guo, Y., Pan, D., Sun, Y., Xin, L., Li, H., & Zeng, X. (2013). Antioxidant activity of phosphorylated exopolysaccharide produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. *Carbohydrate Polymers*, *97*(2), 849-854. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.06.024>
- Guyon, C. (2016). Impact des traitements par hautes pressions sur l'oxydation des lipides et les protéines de la viande bovine. Thèse de doctorat. Université de Nantes
- Guyon, C., Meynier, A., & de Lamballerie, M. (2016). Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on high-pressure treatments. *Trends in Food Science & Technology*, *50*, 131-143. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.026>

- Guyon, C., Le Vessel, V., Meynier, A., & de Lamballerie, M. (2018). Modifications of protein-related compounds of beef minced meat treated by high pressure. *Meat Science*, *142*, 32-37. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.03.019>
- Haile, D. M., De Smet, S., Claeys, E., & Vossen, E. (2013). Effect of light, packaging condition and dark storage durations on colour and lipid oxidative stability of cooked ham. *Journal of Food Science and Technology*, *50*(2), 239-247. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0352-x>
- Hamill, R., & Botineştean, C. (2016). Meat: Structure. In *Encyclopedia of Food and Health* (p. 701-710). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00451-7>
- Hamm, R., & Deatherage, F. E. (1960). Changes in hybridation, solubility and charges of muscle proteins during heating of meat. *Food Research International*, *25*, 587-610. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1960.tb00004.x>
- Han, Y., Jiang, Y., Xu, X., Sun, X., Xu, B., & Zhou, G. (2011). Effect of high pressure treatment on microbial populations of sliced vacuum-packed cooked ham. *Meat Science*, *88*(4), 682-688. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.02.029>
- Haque, M. A., Timilsena, Y. P., & Adhikari, B. (2016). Food Proteins, Structure, and Function. *Reference Module in Food Science*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03057-2>
- Hayek, S, A., & Ibrahim, S, A, (2013), Current Limitations and Challenges with Lactic Acid Bacteria: A Review, *Food and Nutrition Sciences*, *04*(11), 73-87, <https://doi.org/10.4236/fns.2013.411A010>
- He, Z., Huang, Y., Li, H., Qin, G., Wang, T., & Yang, J. (2012). Effect of high-pressure treatment on the fatty acid composition of intramuscular lipid in pork. *Meat Science*, *90*(1), 170-175. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.06.022>
- Hendrickx, M., Ludikhuyze, L., Van den Broeck, I. & Weemaes, C., (1998). Effects of high pressure on enzymes related to food quality. *Trends in Food Science & Technology*, *9*. 197-203. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(98\)00039-9](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(98)00039-9)
- Heremans K. (1993). The behaviour of proteins under pressure. In: R. Winter, Jonas J. (eds) *High Pressure Chemistry, Biochemistry and Materials Science*. NATO ASI Series (Series C: Mathematical and Physical Sciences), (Vol 401). Dordrecht: Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-011-1699-2_21
- Hite, B.H. (1899). The effect of pressure in the preservation of milk. *West Virginia Agricultural Experimental Station Bulletin*, *58*, 15-35
- Honikel, K.-O. (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, *78*(1-2), 68-76. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.05.030>
- Horita, C. N., Baptista, R. C., Caturla, M. Y. R., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., & Sant'Ana, A. S. (2017). Combining reformulation, active packaging and non-thermal post-packaging decontamination technologies to increase the microbiological quality and safety of cooked ready-to-eat meat products. *Trends in Food Science & Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.12.003>
- Hornbuckle, W. E., Simpson, K. W., & Tennant, B. C. (2008). Gastrointestinal Function, In Kaneko, J.J., Harvey, J. & Bruss, M.L. (Eds) *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, (6th Edition). Elsevier
- Hu, P., Xu, X. L., Zhou, G. H., Han, Y. Q., Xu, B. C., & Liu, J. C. (2008). Study of the *Lactobacillus sakei* protective effect towards spoilage bacteria in vacuum packed cooked ham analyzed by PCR-DGGE. *Meat Science*, *80*(2), 462-469. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.01.011>

- Huang, Y., He, Z., Li, H., Li, F., & Wu, Z. (2012). Effect of antioxidant on the fatty acid composition and lipid oxidation of intramuscular lipid in pressurized pork. *Meat Science*, *91*(2), 137-141. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.006>
- Hugas, M., Garriga, M., & Monfort, J. M. (2002). New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology. *Meat science*, *62*(3), 359–371.
- Hultin, H. O., Feng, Y., & Stanley, D. W. (1995). A re-examination of muscle protein solubility. *Journal of Muscle Foods*, *6*(2), 91-107. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4573.1995.tb00560.x>
- Hygreeva, D., & Pandey, M. C. (2016). Novel approaches in improving the quality and safety aspects of processed meat products through high pressure processing technology - A review. *Trends in Food Science & Technology*, *54*, 175-185. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.06.002>
- Igene, J. O., King, J. A., Pearson, A. M., & Gray, J. I. (1979). Influence of heme pigments, nitrite, and nonheme iron on development of warmed-over flavor (WOF) in cooked meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *27*(4), 838-842. <https://doi.org/10.1021/jf60224a052>
- Inguglia, E. S., Zhang, Z., Tiwari, B. K., Kerry, J. P., & Burgess, C. M. (2017). Salt reduction strategies in processed meat products – A review. *Trends in Food Science & Technology*, *59*, 70-78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.016>
- InVS (2016). Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives- Données de la déclaration obligatoire 2016. <http://invs.santepubliquefrance.fr/> Page consulté le 25 Septembre 2018
- Ishiwatari, N., Fukuoka, M., & Sakai, N. (2013). Effect of protein denaturation degree on texture and water state of cooked meat. *Journal of Food Engineering*, *117*(3), 361-369. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.03.013>
- Jacobsen, T., Budde, B. B., & Koch, A. G. (2003). Application of *Leuconostoc carnosum* for biopreservation of cooked meat products. *Journal of Applied Microbiology*, *95*(2), 242-249. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01970.x>
- Jalarama Reddy, K., Jayathilakan, K., Chauhan, O. P., Pandey, M. C., & Radhakrishna, K. (2015). Effect of High-Pressure Processing on Physico-Chemical and Microbial Quality Characteristics of Chevon (*Capra aegagrus hircus*). *Food and Bioprocess Technology*, *8*(12), 2347-2358, <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1617-6>
- Jaroni, D., Ravishankar, S., & Juneja, V. (2010). Microbiology of ready-to-eat foods. Ready-to-Eat foods. 1–60. CRC Press. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1201/EBK1420068627-c1>.
- Jofré, A., & Serra, X. (2016). Processing of Meat Products Utilizing High Pressure. In Balasubramaniam, V. M., Barbosa-Cánovas, G. V. & Lelieveld, H. L. M. (Éd.), *High Pressure Processing of Food* (p. 591-623). New York, NY: Springer New York. Consulté à l'adresse http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-3234-4_26
- Jofré, A., Aymerich, T., & Garriga, M. (2008). Assessment of the effectiveness of antimicrobial packaging combined with high pressure to control *Salmonella sp.* in cooked ham. *Food Control*, *19*(6), 634-638. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.06.007>
- Jofré, A., Aymerich, T., Grèbol, N., & Garriga, M. (2009). Efficiency of high hydrostatic pressure at 600MPa against food-borne microorganisms by challenge tests on convenience meat products. *LWT - Food Science and Technology*, *42*(5), 924-928. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.12.001>

- Johnson, E. M., Jung, D. Y.-G., Jin, D. Y.-Y., Jayabalan, D. R., Yang, D. S. H., & Suh, J. W. (2017). Bacteriocins as food preservatives: Challenges and emerging horizons. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-25. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1340870>
- Jolibert, F., Tonello, C., Sagegh, P. & Raymond, J. (1993). Les effets des hautes pressions sur la polyphénol oxydase des fruits. *Bios Boissons Conditionnement*, 251. 27-35
- Jongberg, S., Lund, M. N., & Skibsted, L. H. (2017). Protein Oxidation in Meat and Meat Products. Challenges for Antioxidative Protection. In G. V. Barbosa-Cánovas, G. María Pastore, K. Candoğan, I. G. Medina Meza, S. Caetano da Silva Lannes, K. Buckle, ... A. Rosenthal (Éd.), *Global Food Security and Wellness* (p. 315-337). New York, NY: Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6496-3_17
- Joosen, A. M. C. P., Kuhnle, G. G. C., Aspinall, S. M., Barrow, T. M., Lecommandeur, E., Azqueta, A., Collins, A.R. & Bingham, S. A. (2009). Effect of processed and red meat on endogenous nitrosation and DNA damage. *Carcinogenesis*, 30(8), 1402-1407. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp130>.
- Jung, S., Ghoul, M., & de Lamballerie-Anton, M. (2003). Influence of high pressure on the color and microbial quality of beef meat. *LWT-Food Science and Technology*, 36(6), 625-631. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00082-3](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00082-3)
- Jung, S., Tonello Samson, C., & de Lamballerie, M. (2010). High Hydrostatic Pressure Food Processing. In A. Proctor (Éd.), *Green Chemistry Series*. (p 254-306). Cambridge: Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781849730976-00254>
- Jung, S., Nam, K. C., Ahn, D. U., Kim, H. J., & Jo, C. (2013). Effect of phosvitin on lipid and protein oxidation in ground beef treated with high hydrostatic pressure. *Meat Science*, 95(1), 8-13. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.005>
- Jung, S. (2016). Applications and Opportunities for Pressure- Assisted Extraction. In V. M. Balasubramaniam, G. V. Barbosa-Cánovas & H. L. M. Lelieveld (Éds.), *High Pressure Processing of Food* (p. 173-191). New York, NY: Springer New York
- Kajak-Siemaszko, K., Aubry, L., Peyrin, F., Bax, M.-L., Gatellier, P., Astruc, T., Przybylski, W., Jaworska, D., Gaillard-Martinie, B. & Santé-Lhoutellier, V. (2011). Characterization of protein aggregates following a heating and freezing process. *Food Research International*, 44(10), 3160-3166. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.07.043>
- Kalschne, D. L., Geitenes, S., Veit, M. R., Sarmiento, C. M. P., & Colla, E. (2014). Growth inhibition of lactic acid bacteria in ham by nisin: A model approach. *Meat Science*, 98(4), 744-752. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.07.002>
- Katsaras, K. & Budras, K.D. (1993). The relationship of the microstructure of cooked ham to its properties and quality. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 26 (3). 229-234.
- Kenmogne-Domguia, H. B., Meynier, A., Boulanger, C., & Genot, C. (2012). Lipid Oxidation in Food Emulsions Under Gastrointestinal-Simulated Conditions: The Key Role of Endogenous Tocopherols and Initiator. *Food Digestion*, 3(1-3), 46-52. <https://doi.org/10.1007/s13228-012-0026-9>
- Kim, S.-H., Kang, K. H., Kim, S. H., Lee, S., Lee, S.-H., Ha, E.-S., Sung, N.-J., Kim, J.-G. & Chung, M. J. (2017). Lactic acid bacteria directly degrade N-nitrosodimethylamine and increase the nitrite-scavenging ability in kimchi. *Food Control*, 71, 101-109. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.06.039>
- Kosowska, M., A. Majcher, M., & Fortuna, T. (2017). Volatile compounds in meat and meat products. *Food Science and Technology*, 37(1), 1-7. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.08416>

- Kreyenschmidt, J., Hübner, A., Beierle, E., Chonsch, L., Scherer, A., & Petersen, B. (2010). Determination of the shelf life of sliced cooked ham based on the growth of lactic acid bacteria in different steps of the chain. *Journal of Applied Microbiology*, *108*(2), 510-520. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04451.x>
- Kunji, E. R. S., Fang, G., Jeronimus-Stratingh, C. M., Bruins, A. P., Poolman, B., & Konings, W. N. (1998). Reconstruction of the proteolytic pathway for use of β -casein by *Lactococcus lactis*. *Molecular Microbiology*, *27*(6), 1107-1118. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00769.x>
- Lachowicz, K., Sobczak, M., Gajowiecki, L., & Zych, A. (2003). Effects of massaging time on texture, rheological properties, and structure of three pork ham muscles. *Meat Science*, *63*(2), 225-233. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00073-6](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00073-6)
- Laemmli U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, *227*, 680-685.
- Leisner, J. J., Laursen, B. G., Prévost, H., Drider, D., & Dalgaard, P. (2007). *Carnobacterium*: positive and negative effects in the environment and in foods. *FEMS Microbiology Reviews*, *31*(5), 592-613. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00080.x>
- Leistner, L. (2000). Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *International Journal of Food Microbiology*, *55*(1-3), 181-186. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00161-6](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00161-6)
- Lepetit, J. (2008). Collagen contribution to meat toughness: Theoretical aspects. *Meat Science*, *80*(4), 960-967. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.06.016>
- Lerasle, M., Durantou, F., Simonin, H., Membré, J. M., Chéret, R., de Lamballerie, M., Guillou, S. & Federighi, M. (2012). Traitements par hautes pressions hydrostatiques des denrées alimentaires : état de l'art. *Revue Méd. Vét*, *163*(12), 595–614.
- Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, *15*(2), 67-78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004>
- Levine, R.L., Williams, J.A., Stadtman, E.R. & Shacter, E. (1994) Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, *233*. 346-357
- Li, C., Szczepaniak, S., Steen, L., Goemaere, O., Impens, S., Paelinck, H., & Zhou, G. (2011). Effect of tumbling time and cooking temperature on quality attributes of cooked ham: Processing condition of cooked ham. *International Journal of Food Science & Technology*, *46*(10), 2159-2163. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02731.x>
- Lianou, A., Panagou, E. Z., & Nychas, G.-J. E. (2017). Meat Safety—I Foodborne Pathogens and Other Biological Issues. In *Lawrie's Meat Science* (p. 521-552). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100694-8.00017-0>
- Li-Chan, E. C. Y., & Lacroix, I. M. E. (2018). Properties of proteins in food systems: An introduction. In Yada, R.Y. (Ed). *Proteins in Food Processing* (p. 1-25). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100722-8.00002-4>
- Liu, M., Nauta, A., Francke, C., & Siezen, R. J. (2008). Comparative Genomics of Enzymes in Flavor-Forming Pathways from Amino Acids in Lactic Acid Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, *74*(15), 4590-4600. <https://doi.org/10.1128/AEM.00150-08>

- Liu, Y., Betti, M. & Gänzle, M.G. (2012a). High pressure inactivation of *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, and spoilage microbiota on poultry meat, *Journal of Food Protection*, 75, 497-503. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-316>
- Liu, G., Wang, Y., Gui, M., Zheng, H., Dai, R., & Li, P. (2012b). Combined effect of high hydrostatic pressure and enterocin LM-2 on the refrigerated shelf life of ready-to-eat sliced vacuum-packed cooked ham. *Food Control*, 24(1-2), 64-71. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.09.004>
- Loh, Y. H., Jakszyn, P., Luben, R. N., Mulligan, A. A., Mitrou, P. N., & Khaw, K.-T. (2011). N-nitroso compounds and cancer incidence: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)–Norfolk Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 93(5), 1053-1061. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.012377>
- López-Caballero, M. E., Carballo, J., & Jiménez-Colmenero, F. (1999). Microbiological changes in pressurized, prepackaged sliced cooked ham. *Journal of Food Protection*, 62(12), 1411-1415. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-62.12.1411>
- López-Caballero, M. E., Carballo, J., & Jiménez-Colmenero, R. (2002). Microbial inactivation in meat products by pressure/temperature processing. *Journal of Food Science*, 67(2), 797-801. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10679.x>
- Love, J. D., & Pearson, A. M. (1974). Metmyoglobin and nonheme iron as prooxidants in cooked meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 22(6), 1032-1034. <https://doi.org/10.1021/jf60196a010>
- Lund, M. N., Heinonen, M., Baron, C. P., & Estévez, M. (2011). Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(1), 83-95. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201000453>
- Ma, C.-Y., & Harwalkar, V. R. (1991). Thermal Analysis of Food Proteins, In *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 35, p. 317-366), Elsevier, [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(08\)60067-4](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(08)60067-4)
- Ma, H.-J., & Ledward, D. (2004). High pressure/thermal treatment effects on the texture of beef muscle, *Meat Science*, 68(3), 347-355, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.04.001>
- Ma, H., & Ledward, D. A. (2013). High pressure processing of fresh meat — Is it worth it? *Meat Science*, 95(4), 897-903. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.03.025>
- Makita, T. (1992). Application of high pressure and thermophysical properties of water to biotechnology. *Fluid Phase Equilibria*, 76, 87-95. [https://doi.org/10.1016/0378-3812\(92\)85079-N](https://doi.org/10.1016/0378-3812(92)85079-N)
- Maragkoudakis, P. A., Mountzouris, K. C., Psyras, D., Cremonese, S., Fischer, J., Cantor, M. D., & Tsakalidou, E. (2009). Functional properties of novel protective lactic acid bacteria and application in raw chicken meat against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enteritidis*. *International Journal of Food Microbiology*, 130(3), 219-226. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.01.027>
- Marcos, B., Aymerich, T., Monfort, J.M. & Garriga, M. (2008). High-pressure processing and antimicrobial biodegradable packaging to control *Listeria monocytogenes* during storage of cooked ham, *Food Microbiology*, 25, 177-182. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.05.002>
- Marcos, B., Kerry, J. P., & Mullen, A. M. (2010). High pressure induced changes on sarcoplasmic protein fraction and quality indicators, *Meat Science*, 85(1), 115-120, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.12.014>
- Margosch, D., Ehrmann, M. A., Gänzle, M. G., & Vogel, R. F. (2004). Comparison of Pressure and Heat Resistance of *Clostridium botulinum* and Other Endospores in Mashed Carrots. *Journal of Food Protection*, 67(11), 2530-2537. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.11.2530>

- Margosch, D., Ehrmann, M. A., Buckow, R., Heinz, V., Vogel, R. F., & Ganzle, M. G. (2006). High-Pressure-Mediated Survival of *Clostridium botulinum* and *Bacillus amyloliquefaciens* Endospores at High Temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(5), 3476-3481. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.5.3476-3481.2006>
- Mariutti, L. R. B., Orlie, V., Bragagnolo, N., & Skibsted, L. H. (2008). Effect of sage and garlic on lipid oxidation in high-pressure processed chicken meat. *European Food Research and Technology*, 227(2), 337-344. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0726-5>
- Martin, J.-L. (2003). Sel et technologie en charcuterie-salaison. *Centre technique de la salaison de la charcuterie et des conserves de viandes CTSCCV* 13(4), 13-16.
- Martin, J.-L. (2016). Faisabilité technique et économique des hautes pressions sur les produits de charcuterie. *Les cahiers de l'IFIP* 3(1), 25-44.
- Martinez-Montegudo, S. I., & Saldaña, M. D. A. (2014). Chemical Reactions in Food Systems at High Hydrostatic Pressure. *Food Engineering Reviews*, 6(4), 105-127. <https://doi.org/10.1007/s12393-014-9087-6>
- Martínez-Onandi, N., Rivas-Cañedo, A., Ávila, M., Garde, S., Nuñez, M., & Picon, A. (2017). Influence of physicochemical characteristics and high pressure processing on the volatile fraction of Iberian dry-cured ham. *Meat Science*, 131, 40-47. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.04.233>
- McNeill, S., & Van Elswyk, M. E. (2012). Red meat in global nutrition. *Meat Science*, 92(3), 166-173. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.03.014>
- Medina-Meza, I. G., Barnaba, C., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2014). Effects of high pressure processing on lipid oxidation: A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 22, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.10.012>
- Millette, M., Le Tien, C., Smoragiewicz, W., & Lacroix, M. (2007). Inhibition of *Staphylococcus aureus* on beef by nisin-containing modified alginate films and beads. *Food Control*, 18(7), 878-884. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.05.003>
- Mills, J., Donnison, A., & Brightwell, G. (2014). Factors affecting microbial spoilage and shelf-life of chilled vacuum-packed lamb transported to distant markets: A review. *Meat Science*, 98(1), 71-80. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.05.002>
- Min, B., Cordray, J. C., & Ahn, D. U. (2010). Effect of NaCl, Myoglobin, Fe(II), and Fe(III) on Lipid Oxidation of Raw and Cooked Chicken Breast and Beef Loin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(1), 600-605. <https://doi.org/10.1021/jf9029404>
- Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, J.D., Ménard, O., Recio, I., Santos, C.N., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S.J., Weitschies, W. & Brodkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. *Food & Function*, 5(6), 1113. <https://doi.org/10.1039/c3fo60702j>
- Modugno, C., Loupiac, C., Bernard, A., Jossier, A., Neiers, F., Perrier-Cornet, J.-M., & Simonin, H. (2018). Effect of high pressure on the antimicrobial activity and secondary structure of the bacteriocin nisin. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 47, 9-15. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.01.006>
- Moretti, V. M., Bellagamba, F., Paleari, M. A., Beretta, G., Busetto, M. L., & Caprino, F. (2009). Differentiation of cured cooked hams by physico-chemical properties and chemometrics. *Journal of Food Quality*, 32(1), 125-140. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2008.00240.x>

- Mozhaev, V. V., Heremans, K., Frank, J., Masson, P., & Balny, C. (1994). Exploiting the effects of high hydrostatic pressure in biotechnological applications. *Trends in Biotechnology*, 12(12), 493-501. [https://doi.org/10.1016/0167-7799\(94\)90057-4](https://doi.org/10.1016/0167-7799(94)90057-4)
- Mozhaev, V. V., Heremans, K., Frank, J., Masson, P., & Balny, C. (1996). High pressure effects on protein structure and function. *Proteins: Structure, Function, and Genetics*, 24(1), 81-91. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0134\(199601\)24:1<81::AID-PROT6>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0134(199601)24:1<81::AID-PROT6>3.0.CO;2-R)
- Mozzi, F. (2016). Lactic Acid Bacteria. In *Encyclopedia of Food and Health*. 501-508. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00414-1>
- Myers, K., Montoya, D., Cannon, J., Dickson, J., & Sebranek, J. (2013). The effect of high hydrostatic pressure, sodium nitrite and salt concentration on the growth of *Listeria monocytogenes* on RTE ham and turkey. *Meat Science*, 93(2), 263-268. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.09.007>
- Nagy, P., & Winterbourn, C. C. (2010). Redox Chemistry of Biological Thiols. In *Advances in Molecular Toxicology* (Vol. 4, p. 183-222). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S1872-0854\(10\)04006-3](https://doi.org/10.1016/S1872-0854(10)04006-3)
- Neetoo, H., & Chen, H. (2012). Application of High Hydrostatic Pressure Technology for Processing and Preservation of Foods. In R. Bhat, A. Karim Alias, & G. Paliyath (Éds), *Progress in Food Preservation*. (p 247-276). Oxford, UK: Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781119962045.ch12>
- Nes, I.F., Kjos, M. & Diep D.B. (2011) Antimicrobial components of lactic acid bacteria. In: Lahtinen, S., Ouwehand, A.C., Salmine, S. & Von Wright A. *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*, 4th ed. CRC Press, Boca Raton, pp. 285-329
- Nguyen Thi Minh, H., Dantigny, P., Perrier-Cornet, J.-M., & Gervais, P. (2010). Germination and inactivation of *Bacillus subtilis* spores induced by moderate hydrostatic pressure. *Biotechnology and Bioengineering*, 107(5), 876-883. <https://doi.org/10.1002/bit.22849>
- Nieto-Lozano, J. C., Reguera-Useros, J. I., Peláez-Martínez, M. del C., & Hardisson de la Torre, A. (2006). Effect of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* against *Listeria monocytogenes* and *Clostridium perfringens* on Spanish raw meat. *Meat Science*, 72(1), 57-61. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.06.004>
- Niki, E., Yoshida, Y., Saito, Y., & Noguchi, N. (2005). Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 338(1), 668-676. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.08.072>
- Noonpakdee, W., Sithimonchai, S., Panyim, S., & Lertsiri, S. (2004). Expression of the catalase gene *kataA* in starter culture *Lactobacillus plantarum* TISTR850 tolerates oxidative stress and reduces lipid oxidation in fermented meat product. *International Journal of Food Microbiology*, 95(2), 127-135. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.01.020>
- Norton, T., & Sun, D.-W. (2008). Recent Advances in the Use of High Pressure as an Effective Processing Technique in the Food Industry. *Food and Bioprocess Technology*, 1(1), 2-34. <https://doi.org/10.1007/s11947-007-0007-0>
- Núñez-Flores, R., Cando, D., Borderías, A. J., & Moreno, H. M. (2018). Importance of salt and temperature in myosin polymerization during surimi gelation. *Food Chemistry*, 239, 1226-1234. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.028>
- Ogawa, N.H., Fukuhisa, K., Kubo, Y., Fukumoto, H. (1992). Effect of hydrostatic pressure on sterilization and preservation of citrus juice. In: C. Balny, R., Hayashi, K., Heremans, P., Masson (Eds.), *High Pressure and Biotechnology*, 224. (p 269-278). London: John Libbey Eurotext.

- Oh, H.E., Pinder, D.N., Hemar, Y., Anema, S.G. & Wong, M. (2008). Effect of high pressure treatment on various starch-in-water suspensions. *Food Hydrocolloids*, 22, 150-155.
- Orlien, V., Hansen, E., & Skibsted, L. H. (2000). Lipid oxidation in high-pressure processed chicken breast muscle during chill storage: critical working pressure in relation to oxidation mechanism. *European Food Research and Technology*, 211(2), 99-104. <https://doi.org/10.1007/s002179900118>
- Ouwehand, A. C. & Vesterlund, S. (2004). Antimicrobial Components from Lactic Acid Bacteria. In: Salminen, S., Von Wright, A. & Ouwehand, A. C., *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. 3rd edition. Marcel Dekker, Inc. New York
- Paari, A., Paulraj, K., Ramraj, S., Neelkandan, Y., Vellaiyan, P., Siva, P., & Venkatesan, A. (2011). Biopreservation of *Sardinella longiceps* and *Penaeus monodon* Using Protective Culture *Streptococcus phocae* PI 80 Isolated from Marine Shrimp *Penaeus indicus*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 3(2), 103-111. <https://doi.org/10.1007/s12602-011-9070-y>
- Pan, D., & Mei, X. (2010). Antioxidant activity of an exopolysaccharide purified from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 12. *Carbohydrate Polymers*, 80(3), 908-914. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.01.005>
- Pancrazio, G., Cunha, S. C., De Pinho, P. G., Loureiro, M., Ferreira, I. M. P. L. V. O., & Pinho, O. (2015). Physical and Chemical Characteristics of Cooked Ham: Effect of Tumbling Time and Modifications during Storage: Effect of Tumbling Time on Cooked Ham. *Journal of Food Quality*, 38(5), 359-368. <https://doi.org/10.1111/jfq.12153>
- Papastergiadis, A., Mubiru, E., Van Langenhove, H., & De Meulenaer, B. (2012). Malondialdehyde Measurement in Oxidized Foods: Evaluation of the Spectrophotometric Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) Test in Various Foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(38), 9589-9594. <https://doi.org/10.1021/jf302451c>
- Papuc, C., Goran, G. V., Predescu, C. N., & Nicorescu, V. (2017). Mechanisms of Oxidative Processes in Meat and Toxicity Induced by Postprandial Degradation Products: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1), 96-123. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12241>
- Parthasarathy, D. K., & Bryan, N. S. (2012). Sodium nitrite: The “cure” for nitric oxide insufficiency. *Meat Science*, 92(3), 274-279. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.03.001>
- Pearson, A.M. & Young, R.B. (1989). Muscle and meat biochemistry. *Food Science and Technology. A series of monographs*. Academic Press, San Diego.
- Pegg, R.B., Shahidi, F. & Fox, J.J.B. (1997) Unraveling the chemical identity of meat pigments, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, (37)6, 561-589. <http://dx.doi.org/10.1080/10408399709527789>
- Perez, R., Perez, M. T., & Elegado, F. (2015). Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: A Review of Biosynthesis, Mode of Action, Fermentative Production, Uses, and Prospects. *International Journal of Philippine Science and Technology*, 8(2), 61-67. <https://doi.org/10.18191/2015-08-2-027>
- Perrier-Cornet, J.-M., Moussa, M., & Gervais, P. (2009). Applications des hautes pressions hydrostatiques en agroalimentaire. *Techniques de l'ingénieur. Agroalimentaire*, 2(F3225)
- Pierre, F. (2016). Produits carnés et risque de cancer : rôle du fer héminique et de la peroxydation lipidique. *Viandes & Produits Carnés*. VPC 2016-32-4-5
- Pietrasik, Z., Gaudette, N. J., & Johnston, S. P. (2017). The impact of high hydrostatic pressure on the functionality and consumer acceptability of reduced sodium naturally cured wieners. *Meat Science*, 129, 127-134. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.02.020>

- Pietrzak, D., Fonberg-Broczek, M., Mucka, A., & Windyga, B. (2007). Effects of high pressure treatment on the quality of cooked pork ham prepared with different levels of curing ingredients. *High Pressure Research*, 27(1), 27-31. <https://doi.org/10.1080/08957950601091087>
- Pighin, D. G., Sancho, A. M., & Gonzalez, C. B. (2008). Effect of salt addition on the thermal behavior of proteins of bovine meat from Argentina. *Meat Science*, 79(3), 549-556. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.12.011>
- Pingen, S., Sudhaus, N., Becker, A., Krischek, C., & Klein, G. (2016). High pressure as an alternative processing step for ham production. *Meat Science*, 118, 22-27. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.03.014>
- Pottier, L., Guyon, C., Rakotondramavo, A., Villamonte, G., Arnaud, C., & de, M. (2016). Effets des Hautes Pressions sur les produits carnés : développement industriel et potentialités. *Viandes & Produits Carnés*. VPC-2016-32-4-6
- Promeyrat, A., Gatellier, P., Leuret, B., Kajak-Siemaszko, K., Aubry, L., & Santé-Lhoutellier, V. (2010a). Evaluation of protein aggregation in cooked meat. *Food Chemistry*, 121(2), 412-417. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.057>
- Promeyrat, A., Bax, M. L., Traoré, S., Aubry, L., Santé-Lhoutellier, V., & Gatellier, P. (2010b). Changed dynamics in myofibrillar protein aggregation as a consequence of heating time and temperature. *Meat Science*, 85(4), 625-631. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.03.015>
- Promeyrat, A. (2013). Analyse et modélisation des mécanismes à l'origine des modifications des protéines lors du chauffage du tissu musculaire. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal. Clermont Ferrand.
- Promeyrat, A., Daudin, J. D., & Gatellier, P. (2013). Kinetics of protein physicochemical changes induced by heating in meat using mimetic models: (1) Relative effects of heat and oxidants. *Food Chemistry*, 138(1), 581-589. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.084>
- Puolanne, E. & Halonen, M., (2010). Theoretical aspects of water-holding in meat. *Meat Science* 86(1), 151-165.
- Quintavalla, S., & Vicini, L. (2002). Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat Science*, 62(3), 373-380. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00121-3](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00121-3)
- Ramaroson, M., Guillou, S., Rossero, A., Rezé, S., Anthoine, V., Moriceau, N., Martin, J.L., Durantou, F. & Zagorec, M. (2018). Selection procedure of bioprotective cultures for their combined use with High Pressure Processing to control spore-forming bacteria in cooked ham. *International Journal of Food Microbiology*, 276, 28-38. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.010>
- Raso J., Barbosa-Canovas G. & Swanson B.G., (1998). Sporulation temperature affects initiation of germination and inactivation by high hydrostatic pressure of *Bacillus cereus*. *Journal of Applied Microbiology*, 85(1), 17-24. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1998.00460.x>
- Realini, C. E., & Marcos, B. (2014). Active and intelligent packaging systems for a modern society. *Meat Science*, 98(3), 404-419. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.031>
- Reddy, N. R., Tetzloff, R. C., Solomon, H. M., & Larkin, J. W. (2006). Inactivation of *Clostridium botulinum* nonproteolytic type B spores by high pressure processing at moderate to elevated high temperatures. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 7(3), 169-175. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2006.03.002>
- Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N., & Penna, A. L. B. (2012). Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications. *Food Engineering Reviews*, 4(2), 124-140. <https://doi.org/10.1007/s12393-012-9051-2>

- Reitznerová, A., Šuleková, M., Nagy, J., Marciničák, S., Semjon, B., Čertík, M., & Klempová, T. (2017). Lipid peroxidation process in meat and meat products: a comparison study of malondialdehyde determination between modified 2-thiobarbituric acid spectrophotometric method and reverse-phase high-performance liquid chromatography. *Molecules*, 22(11), 1988. <https://doi.org/10.3390/molecules22111988>
- Rémond, D. & Duchène, C. (2014). Qualité nutritionnelle des protéines de la viande. Centre d'Information des Viandes CIV.
- Rendueles, E., Omer, M. K., Alvseike, O., Alonso-Calleja, C., Capita, R., & Prieto, M. (2011). Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: A review. *LWT - Food Science and Technology*, 44(5), 1251-1260. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.11.001>
- Rhee, K. S., & Ziprin, Y. A. (1987). Lipid oxidation in retail beef, pork and chicken muscles as affected by concentrations of heme pigments and nonheme iron and microsomal enzymic lipid peroxidation activity. *Journal of Food Biochemistry*, 11(1), 1-15. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.1987.tb00109.x>
- Rivalain, N., Roquain, J., & Demazeau, G. (2010). Development of high hydrostatic pressure in biosciences: Pressure effect on biological structures and potential applications in Biotechnologies. *Biotechnology Advances*, 28(6), 659-672. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.04.001>
- Rochdi, A., Bonnet, M., & Kopp, J. (1985). Denaturation of muscle collagen during heating. Effect of restraint of fibres on shrinkage and degree of denaturation. *Sciences des Aliments*, 5, 293–298
- Rodgers, S. (2001). Preserving non-fermented refrigerated foods with microbial cultures—a review. *Trends in Food Science & Technology*, 12(8), 276-284. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00093-0](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00093-0)
- Rose, G., Geselowitz, A., Lesser, G., Lee, R., & Zehfus, M. (1985). Hydrophobicity of amino acid residues in globular proteins. *Science*, 229(4716), 834-838. <https://doi.org/10.1126/science.4023714>
- Ros-Polski, V., Koutchma, T., Xue, J., Defelice, C., & Balamurugan, S. (2015). Effects of high hydrostatic pressure processing parameters and NaCl concentration on the physical properties, texture and quality of white chicken meat, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 30, 31-42, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.04.003>
- Rubens, P., Snauwaert, J., Heremans, K., & Stute, R. (1999). In situ observation of pressure induced gelation of starches studied with FTIR in the diamond anvil cell. *Carbohydrate Polymers*, 39, 231-235.
- Rubio, B., Martinez, B., Garcia-Cachan, D., Rovira, J. & Jaime, I. (2007). Effect of high pressure preservation on the quality of dry cured beef “Cecina de Leon”, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8, 102-110. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2006.08.004>
- Rubio, R., Aymerich, T., Bover-Cid, S., Guàrdia, M. D., Arnau, J., & Garriga, M. (2013). Probiotic strains *Lactobacillus plantarum* 299V and *Lactobacillus rhamnosus* GG as starter cultures for fermented sausages. *LWT - Food Science and Technology*, 54(1), 51-56. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.014>
- Ruiz-Capillas, C., Carballo, J., & Jiménez-Colmenero, F. (2007a). Consequences of high-pressure processing of vacuum-packaged frankfurters on the formation of polyamines: Effect of chilled storage. *Food Chemistry*, 104(1), 202-208. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.024>
- Ruiz-Capillas, C., Jiménez Colmenero, F., Carrascosa, A. V., & Muñoz, R. (2007b). Biogenic amine production in Spanish dry-cured “chorizo” sausage treated with high-pressure and kept in chilled storage. *Meat Science*, 77(3), 365-371. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.027>
- Rysman, T., Jongberg, S., Van Royen, G., Van Weyenberg, S., De Smet, S., & Lund, M. N. (2014). Protein Thiols Undergo Reversible and Irreversible Oxidation during Chill Storage of Ground Beef as Detected by

- 4,4'-Dithiodipyridine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(49), 12008-12014. <https://doi.org/10.1021/jf503408f>
- Rysman, T., Van Hecke, T., Van Poucke, C., De Smet, S., & Van Royen, G. (2016). Protein oxidation and proteolysis during storage and in vitro digestion of pork and beef patties. *Food Chemistry*, 209, 177-184. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.027>
- Samelis, J., Kakouri, A., & Rementzis, J. (2000). Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4°C. *Food Microbiology*, 17(3), 329-340. <https://doi.org/10.1006/fmic.1999.0316>
- Sanchez-Moreno, C., Plaza, L., De Ancos, B. & Cano, MP. (2004) Effect of combined treatments of high pressure and natural additives on carotenoid extractability and antioxidant activity of tomato puree (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *European Food Research & Technology*. 219. 151–160. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-0926-1>
- Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(12), 5463-5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Santé-Lhoutellier, V., Astruc, T., Marinova, P., Greve, E., & Gatellier, P. (2008). Effect of Meat Cooking on Physicochemical State and in Vitro Digestibility of Myofibrillar Proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(4), 1488-1494. <https://doi.org/10.1021/jf072999g>
- Santé-Lhoutellier V, Astruc T, Daudin JD, Kondjoyan A, Scislawski V, Gaudichon C, Rémond D (2013) Influence des modes de cuisson sur la digestion des protéines : approches *in vitro* et *in vivo*. *Innovations Agronomiques*. 33 : 69-79.
- Santé-Lhoutellier, V., Astruc, T., Daudin, J. D., Kondjoyan, A., Scislawski, V., Duchène, C., Gaudichon, C., Rémond, D. (2017). Digestion des protéines des viandes en fonction de la cuisson. *Viande et produits carnés*. VPC2017 33(3):3.
- Sanz, Y., Fadda, S., Vignolo, G., Aristoy, M.-C., Oliver, G., & Toldrá, F. (1999). Hydrolysis of muscle myofibrillar proteins by *Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus sake*. *International Journal of Food Microbiology*, 53(2-3), 115-125. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00134-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00134-8)
- Savijoki, K., Ingmer, H., & Varmanen, P. (2006). Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71(4), 394-406. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0427-1>
- Scannell, A. G. M., Hill, C., Buckley, D. J., & Arendt, E. K. (1997). Determination of the influence of organic acids and nisin on shelf-life and microbiological safety aspects of fresh pork sausage. *Journal of Applied Microbiology*, 83(4), 407-412. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1997.00248.x>
- Scheinberg, J. A., Svoboda, A. L., & Cutter, C. N. (2014). High-pressure processing and boiling water treatments for reducing *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., and *Staphylococcus aureus* during beef jerky processing. *Food Control*, 39, 105-110. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.11.002>
- Schumann, B., & Schmid, M. (2018). Packaging concepts for fresh and processed meat – Recent progresses. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 47, 88-100. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.02.005>
- Sebranek, J. G. (2009). Basic Curing Ingredients. In R. Tarté (Éd.), *Ingredients in Meat Products* (p. 1-23). New York, NY: Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-0-387-71327-4_1
- Settanni, L., & Moschetti, G. (2010). Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food Microbiology*, 27(6), 691-697. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.05.023>

- Shahidi, F. (Éd.). (1994). *Flavor of Meat and Meat Products*. Boston, MA : Springer US. Consulté à l'adresse <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-2177-8>
- Shahidi, F., Samaranyaka, A.G.P & Pegg, R.B. (2014), Curing | Brine curing of meat, In *Encyclopedia of Meat Sciences* (Second Edition), (p 416-424). Elsevier
- Sikes, A, L., Tobin, A, B., & Tume, R, K, (2009), Use of high pressure to reduce cook loss and improve texture of low-salt beef sausage batters, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(4), 405-412, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.02.007>
- Sikes, A. L., & Warner, R. (2016). Application of High Hydrostatic Pressure for Meat Tenderization. In *Innovative Food Processing Technologies* (p. 259-290). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100294-0.00010-9>
- Simonet, M. & Catteau, M. (2005). *Yersinia enterocolitica*. In M. Federighi (Ed), *Bactériologie alimentaire*, 173-188. Economica, Paris
- Simonin, H., Guyon, C., Orłowska, M., de Lamballerie, M., & Le-Bail, A. (2011). Gelatinization of waxy starches under high pressure as influenced by pH and osmolarity: Gelatinization kinetics, final structure and pasting properties. *LWT - Food Science and Technology*, 44(3), 779-786. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.07.002>
- Simonin, H., Durantou, F., & de Lamballerie, M. (2012). New Insights into the High-Pressure Processing of Meat and Meat Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(3), 285-306. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2012.00184.x>
- Sindelar, J. J., & Milkowski, A. L. (2011). Sodium Nitrite in Processed Meat and Poultry Meats: A Review of Curing and Examining the Risk/Benefit of Its Use. *American meat science association white paper series*. 3. 16 pages. Illinois, USA.
- Slongo, A. P., Rosenthal, A., Quaresma Camargo, L. M., Deliza, R., Mathias, S. P., & Falcão de Aragão, G. M. (2009). Modeling the growth of lactic acid bacteria in sliced ham processed by high hydrostatic pressure. *LWT - Food Science and Technology*, 42(1), 303-306. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.06.010>
- Sohaib, M., Anjum, F. M., Arshad, M. S., & Rahman, U. U. (2016). Postharvest intervention technologies for safety enhancement of meat and meat based products; a critical review. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 19-30. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1985-y>
- Soladoye, O. P., Juárez, M. L., Aalhus, J. L., Shand, P., & Estévez, M. (2015). Protein Oxidation in Processed Meat: Mechanisms and Potential Implications on Human Health: Protein oxidation, nutrition, and health.... *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(2), 106-122. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12127>
- Solignat, G., Mangin, P., (2003). *Produits de charcuterie - Procédés de transformation* Technique de l'ingénieur, *Traité Agroalimentaire*.
- Solignat, G. (2004). Produits de charcuterie : ingrédients et additifs. *Techniques de l'ingénieur. Agroalimentaire*, 1(6502)
- Stankus, T. (2016). Ham. *Journal of Agricultural & Food Information*, 17(2-3), 174-199. <https://doi.org/10.1080/10496505.2016.1186553>
- Starsburg, G., Xiong, Y.L. & Chiang, W. (2008). Physiology and chemistry of edible muscle tissues. In S. Damodaran, K. Parkin & O. R. Fennema (Eds) *Food Chemistry*. Boca Raton, FL: CRC Press.

- Stollewerk, K., Jofré, A., Comaposada, J., Arnau, J., & Garriga, M. (2012). The effect of NaCl-free processing and high pressure on the fate of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* on sliced smoked dry-cured ham. *Meat Science*, *90*(2), 472-477. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.09.009>
- Sun, X. D., & Holley, R. A. (2010). High Hydrostatic Pressure Effects on the Texture of Meat and Meat Products. *Journal of Food Science*, *75*(1), R17-R23. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01449.x>
- Syed, Q.-A., Buffa, M., Guamis, B., & Saldo, J. (2016). Factors Affecting Bacterial Inactivation during High Hydrostatic Pressure Processing of Foods: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *56*(3), 474-483. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.779570>
- Tamm, A., Bolumar, T., Bajovic, B., & Toepfl, S. (2016). Salt (NaCl) reduction in cooked ham by a combined approach of high pressure treatment and the salt replacer KCl. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *36*, 294-302. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.07.010>
- Tanzi, E., Sacconi, G., Barbuti, S., Grisenti, M. S., Lori, D., Bolzoni, S. & Parolari G. (2004). High-pressure treatment of raw ham. Sanitation and impact on quality. *Industria Conserve*, *79*, 37–50
- Tao, Y., Sun, D.-W., Hogan, E. Sun, & Kelly, A.L. (2014). High pressure processing of food- An overview. In D.-W Sun. (Éd.). *Emerging technologies for food processing* (2ème édition). (p 3-24). Academic Press. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411479-1.00001-2>
- Teixeira, J. S., Maier, M. B., Miller, P., Gänzle, M. G., & McMullen, L. M. (2016). The effect of growth temperature, process temperature, and sodium chloride on the high-pressure inactivation of *Listeria monocytogenes* on ham. *European Food Research and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2700-6>
- Teusink, B., & Molenaar, D. (2017). Systems biology of lactic acid bacteria: For food and thought. *Current Opinion in Systems Biology*, *6*, 7-13. <https://doi.org/10.1016/j.coisb.2017.07.005>
- Thomas, C., Mercier, F., Tournayre, P., Martin, J.-L., & Berdagué, J.-L. (2013). Effect of nitrite on the odourant volatile fraction of cooked ham. *Food Chemistry*, *139*(1-4), 432-438. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.033>
- Tian, Y., & Du, J. B. (2007). Effect of disulfide bond and mercapto-group on structure and function of protein and analytical method. *Journal of Applied and Clinical Pediatrics*, *19*, 1499–1501.
- Tonello C. (1998). Application des hautes pressions en agroalimentaire. In : Boutonnier J.L., Roustel S. *Techniques de l'Ingénieur*, F3220-1- F3220-12.
- Tonello-Samson, C. (2017). High Pressure Processing Commercial Developments: Global Market, Equipment and Applications in the Meat Industry. European Symposium on Food Safety, 29-31 March 2017, Brussels, Belgium.
- Tornberg, E. (2005). Effects of heat on meat proteins – Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science*, *70*(3), 493-508. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.11.021>
- Tu, L. & Mustapha, A. (2002). Reduction of *Brochothrix thermosphacta* and *Salmonella* Serotype *Typhimurium* on Vacuum-Packaged Fresh Beef Treated with Nisin and Nisin Combined with EDTA. *Journal of food science* *67*(1), 302-306. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11401.x>
- Tumbariski, Y., Lante, A., & Krastanov, A. (2018). Immobilization of bacteriocins from lactic acid bacteria and possibilities for application in food biopreservation. *The Open Biotechnology Journal*, *12*(1), 25-32. <https://doi.org/10.2174/1874070701812010025>

- Tume, R. K., Sikes, A. L., & Smith, S. B. (2010). Enriching *M. sternomandibularis* with -tocopherol by dietary means does not protect against the lipid oxidation caused by high-pressure processing. *Meat Science*, 84(1), 66-70. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.08.013>
- Ustunol, Z. (2015). Physical, Chemical, and Processing-Induced Changes in Proteins. *Applied Food Protein Chemistry*, 23–46. <https://doi.org/10.1002/9781118860588.ch4>
- Válková, V., Saláková, A., Buchtová, H., & Tremlová, B. (2007). Chemical, instrumental and sensory characteristics of cooked pork ham. *Meat Science*, 77(4), 608-615. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.05.013>
- Vallons, K. J. R., & Arendt, E. K. (2009). Effects of high pressure and temperature on the structural and rheological properties of sorghum starch. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(4), 449-456. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.06.008>
- Van de Guchte, M., Serror, P., Chervaux, C., Smokvina, T., Ehrlich, S. D., & Maguin, E. (2002). Stress responses in lactic acid bacteria. In R. J. Siezen, J. Kok, T. Abee, & G. Schasfsma (Éd.), *Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications*. (p. 187-216). Netherlands: Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-017-2029-8_12
- Van Opstal, I., Bagamboula, C. F., Vanmuysen, S. C. M., Wuytack, E. Y., & Michiels, C. W. (2004). Inactivation of *Bacillus cereus* spores in milk by mild pressure and heat treatments. *International Journal of Food Microbiology*, 92(2), 227-234. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.09.011>
- Vasilopoulos, C., De Mey, E., Dewulf, L., Paelinck, H., De Smedt, A., Vandendriessche, F., De Vuyst, L. & Leroy, F. (2010). Interactions between bacterial isolates from modified-atmosphere-packaged artisan-type cooked ham in view of the development of a bioprotective culture. *Food Microbiology*, 27(8), 1086-1094. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.07.013>
- Vercammen, A., Vanoirbeek, K. G. A., Lurquin, I., Steen, L., Goemaere, O., Szczepaniak, S., Paelinck, H., Hendrickx, M. E. G. & Michiels, C. W. (2011). Shelf-life extension of cooked ham model product by high hydrostatic pressure and natural preservatives. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(4), 407-415. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.07.009>
- Vermeiren, L., Devlieghere, F., & Debevere, J. (2004). Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 96(2), 149-164. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.016>
- Vermeiren, L., Devlieghere, F., & Debevere, J. (2006). Co-culture experiments demonstrate the usefulness of *Lactobacillus sakei* 10A to prolong the shelf-life of a model cooked ham. *International Journal of Food Microbiology*, 108(1), 68-77. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.11.001>
- Vieira, S. A., Zhang, G., & Decker, E. A. (2017). Biological Implications of Lipid Oxidation Products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94(3), 339-351. <https://doi.org/10.1007/s11746-017-2958-2>
- Vijayakumar, P., & Muriana, P. (2017). Inhibition of *Listeria monocytogenes* on Ready-to-Eat Meats Using Bacteriocin Mixtures Based on Mode-of-Action. *Foods*, 6(3), 22. <https://doi.org/10.3390/foods6030022>
- Villamonte, G., Simonin, H., Duranton, F., Chéret, R., & de Lamballerie, M. (2013). Functionality of pork meat proteins: Impact of sodium chloride and phosphates under high-pressure processing, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 18, 15-23, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.12.001>

- Villamonte, G., Pottier, L., & de Lamballerie, M. (2017). Influence of high-pressure processing on the oxidative processes in pork batters: efficacy of rosemary extract and sodium ascorbate. *European Food Research and Technology*, 243(9), 1567-1576. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2865-7>
- Villaverde, A., Ventanas, J., & Estévez, M. (2014). Nitrite promotes protein carbonylation and Strecker aldehyde formation in experimental fermented sausages: Are both events connected? *Meat Science*, 98(4), 665-672. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.017>
- Villière, A. & Genot, C. (2006). Approche physico-chimique et sensorielle de l'oxydation des lipides en émulsions. *OCL journal*. 13(2-3), 152-159. <https://doi.org/10.1684/ocl.2006.0028>
- Visschers, R. W., & de Jongh, H. H. J. (2005). Disulphide bond formation in food protein aggregation and gelation. *Biotechnology Advances*, 23(1), 75-80. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2004.09.005>
- Von Hippel P. H. & Wong K. Y. (1965). On the conformational stability of globular proteins. The effects of various electrolytes and nonelectrolytes on the thermal ribonuclease transition. *Journal of Biological Chemistry*, 240(10):3909-23.
- Vossen, E., & De Smet, S. (2015). Protein Oxidation and Protein Nitration Influenced by Sodium Nitrite in Two Different Meat Model Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(9), 2550-2556. <https://doi.org/10.1021/jf505775u>
- Wang, A. M., Doyle, M. V. & Mark, D. F. (1989). Quantitation of mRNA by the polymerase chain reaction. *National Academy of Sciences*. 86 (24), 9717-9721. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.24.9717>
- Wang, H., Yao, J., & Gänzle, M. (2015), Effect of Pressure on Quality, Protein Functionality, and Microbiological Properties of Honey Garlic Pork Chops, 61st International Congress of Meat Science and Technology, 23-28th August 2015, Clermont-Ferrand, France
- Wang, Z., Xu, W., Kang, N., Shen, Q., & Zhang, D. (2016). Microstructural, protein denaturation and water holding properties of lamb under pulse vacuum brining. *Meat Science*, 113, 132-138. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.11.015>
- Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., & Lane, D. J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, 173(2), 697-703. <https://doi.org/10.1128/jb.173.2.697-703.1991>
- West, D. W., Burd, N. A., Coffey, V. G., Baker, S. K., Burke, L. M., Hawley, J. A., Moore, D.R., Stellingwerff, T. & Phillips, S. M. (2011). Rapid aminoacidemia enhances myofibrillar protein synthesis and anabolic intramuscular signaling responses after resistance exercise. *American Journal of Clinical Nutrition*, 94(3), 795-803. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.013722>
- Wilson, M.J. & Baker, R. High Temperature / Ultra High Pressure Sterilization of Foods. 2001, US Patent 6,207,215 B1.
- Wood, J. D. (2017). Meat Composition and Nutritional Value. In *Lawrie's Meat Science* (p. 635-659). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100694-8.00020-0>
- Woraprayote, W., Malila, Y., Sorapukdee, S., Swetwivathana, A., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2016). Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Meat Science*, 120, 118-132. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.004>
- Wu, V.C.H. (2008). A review of microbial injury and recovery methods in food. *Food Microbiology*, 25(6), 735-744. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.04.011>

- Wuytack, E.Y., Boven, S. & Michiels, C.W., (1998). Comparative Study of Pressure-Induced Germination of *Bacillus subtilis* Spores at Low and High Pressures. *Applied and environmental microbiology*, 64(9), 3220-3224.
- Xiong, Y. L., Brekke, C. J., & Leung, H. K. (1987). Thermal denaturation of muscle proteins from different species and muscle types as studied by Differential Scanning Calorimetry. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 20(5), 357-362. [https://doi.org/10.1016/S0315-5463\(87\)71331-5](https://doi.org/10.1016/S0315-5463(87)71331-5)
- Xiong, Y. L. (2018). Muscle proteins. In: Yada, R.Y. (Ed) *Proteins in Food Processing* (p. 127-148). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100722-8.00006-1>
- Yang, H., Han, M., Wang, X., Han, Y., Wu, J., Xu, X., & Zhou, G. (2015). Effect of high pressure on cooking losses and functional properties of reduced-fat and reduced-salt pork sausage emulsions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 29, 125-133. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.02.013>
- Yin, L.-J., Pan, C.-L., & Jiang, S.-T. (2002). Effect of Lactic Acid Bacterial Fermentation on the Characteristics of Minced Mackerel. *Journal of Food Science*, 67(2), 786-792. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10677.x>
- Yordanov, D. G., & Angelova, G. V. (2010). High Pressure Processing for Foods Preserving. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24(3), 1940-1945. <https://doi.org/10.2478/V10133-010-0057-8>
- Yost, C. K. (2014). Biopreservation. In *Encyclopedia of Meat Sciences* (p. 76-82). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00111-2>
- Yuste, J., Pla, R., & Mor-Mur, M. (2000). *Salmonella enteritidis* and aerobic mesophiles in inoculated poultry sausages manufactured with high-pressure processing. *Letters in Applied Microbiology*, 31(5), 374-377. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2000.00829.x>
- Zagorec, M., & Champomier-Vergès, M.-C. (2017). Meat Microbiology and Spoilage. In *Lawrie's Meat Science*. (p 187-203). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100694-8.00006-6>
- Zhang, W., Xiao, S., & Ahn, D. U. (2013). Protein Oxidation: Basic Principles and Implications for Meat Quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(11), 1191-1201. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.577540>
- Zhang, Z., Yang, Y., Zhou, P., Zhang, X., & Wang, J. (2017a). Effects of high pressure modification on conformation and gelation properties of myofibrillar protein. *Food Chemistry*, 217, 678-686. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.040>
- Zhang, Y., Hu, P., Lou, L., Zhan, J., Fan, M., Li, D., & Liao, Q. (2017b). Antioxidant Activities of Lactic Acid Bacteria for Quality Improvement of Fermented Sausage: Antioxidant activities of lactic acid bacteria.... *Journal of Food Science*, 82(12), 2960-2967. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13975>
- Zhou, G. H., Xu, X. L., & Liu, Y. (2010). Preservation technologies for fresh meat – A review. *Meat Science*, 86(1), 119-128. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.033>
- Zhu, Y., Wang, P. P., Zhao, J., Green, R., Sun, Z., Roebbothan, B., Squires, J., Buehler, S., Dicks, E., Zhao, J., Cotterchio, M., Campbell, P.T., Jain, M., Parfrey, P.S. & McLaughlin, J. R. (2014). Dietary N-nitroso compounds and risk of colorectal cancer: a case-control study in Newfoundland and Labrador and Ontario, Canada. *British Journal of Nutrition*, 111(06), 1109-1117. <https://doi.org/10.1017/S0007114513003462>

VALORISATION DES TRAVAUX DE THESE

Articles parus

Pottier, L., Guyon, C., Rakotondramavo, A., Villamonte, G., Arnaud, C. & de Lamballerie M. (2016). Le procédé par hautes pressions appliqué aux produits carnés. *Viandes et produits carnés*. VPC-2016-32-4-6

Rakotondramavo, A., Rabesona, H., Brou, C., de Lamballerie, M. & Pottier, L. (2018). Ham processing: Effects of tumbling, cooking and high pressure on proteins. *European Food Research and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3159-4>

Communications orales

Pottier, L., Guyon, C., Rakotondramavo, A., Villamonte, G., Arnaud, C. & de Lamballerie M. (2016). Le procédé par hautes pressions appliqué aux produits carnés. 16^{ème} Journée Sciences du Muscle et Technologies des Viandes. 21 – 22 Novembre 2016. Paris, France.

Rakotondramavo, A., Pottier, L. & de Lamballerie M. (2018). Impact of the ham manufacturing process on protein digestibility. 56th European High Pressure Research Group Meeting. 2 – 7 Septembre 2018. Aveiro, Portugal

Communications affichées

Rakotondramavo, A., Pottier, L. & de Lamballerie M. (2016). Lipid peroxidation of high pressure-treated cooked ham. 9th International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology. 25 - 29 Juillet 2016. Toronto, Canada.

Rakotondramavo, A., Guyon, C., Pottier, L. & de Lamballerie M. (2016). Effets des hautes pressions sur l'oxydation des lipides et des protéines du jambon cuit. 16^{ème} Journée Sciences du Muscle et Technologies des Viandes. 21 – 22 Novembre 2016. Paris, France.

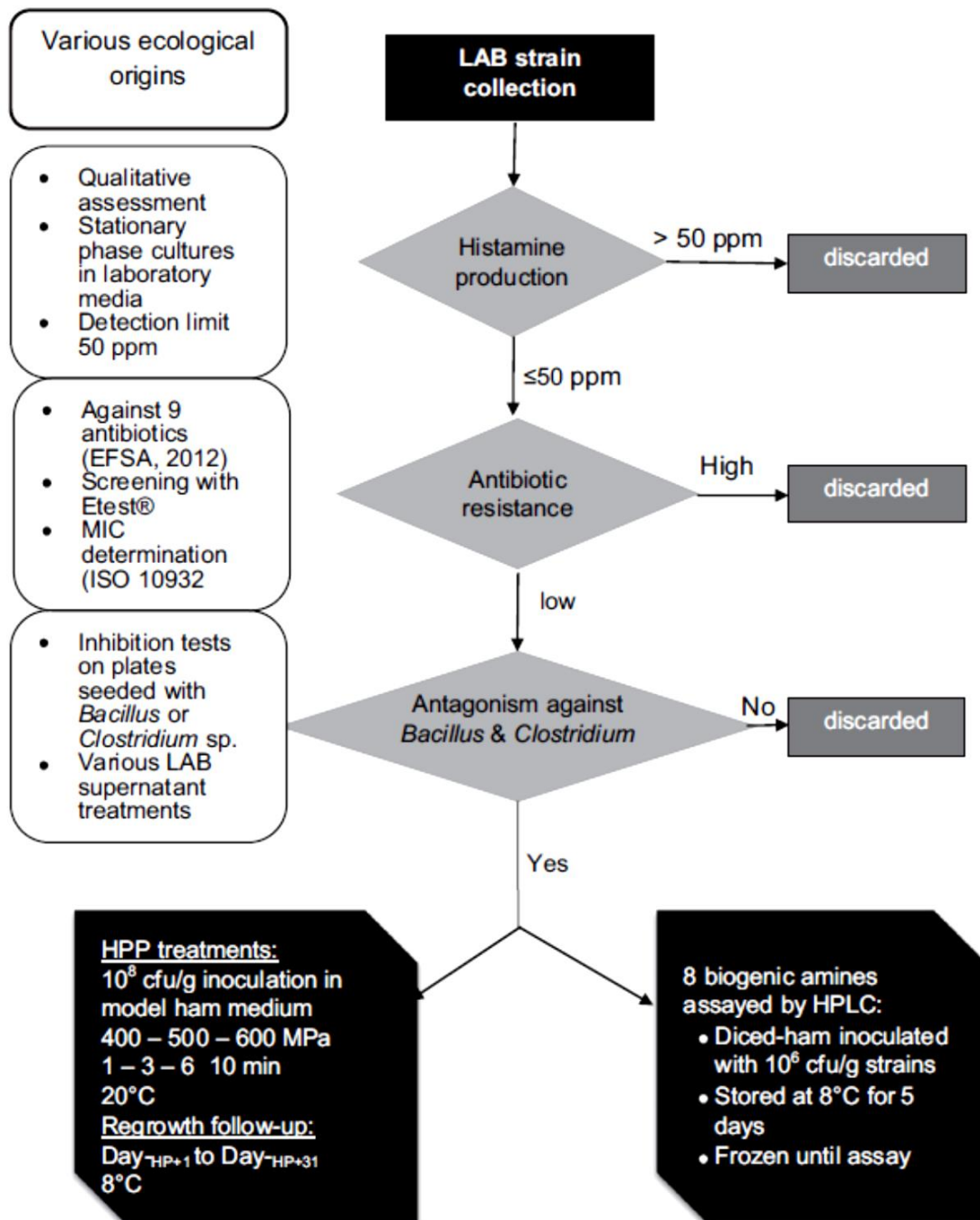
Rakotondramavo, A., Guyon, C., Pottier, L. & de Lamballerie M. (2017). High pressure on cooked ham: a way to increase shelf-life while maintaining high standard quality. 63rd International Congress Of Meat Science and Technology. 13 – 18 Août 2017. Cork, Ireland.

Rakotondramavo, A., Guyon, C., Rabesona, H., Brou, C., de Lamballerie, M. & Pottier, L. (2018). Digestibility of high-pressure processed cooked ham. 32nd European Federation of Food Science and Technology International Conference. 6 – 8 Novembre 2018. Nantes, France.

ANNEXES

ANNEXE 1

Protocole de sélection des souches de biopréservation (Selon Ramarosan *et al.*, 2018)



ANNEXE 2

Tableau statistique détaillant le nombre minimal de réponses correctes nécessaire pour conclure qu'il existe une différence perceptible, sur la base d'un essai triangulaire (selon la norme NF EN ISO 4120 : 2007)

Les valeurs correspondent au nombre minimal de réponses correctes requis pour être significatif au niveau α déterminé (c'est-à-dire la colonne) pour le nombre correspondant de sujets n (c'est-à-dire la ligne). Rejeter l'hypothèse «pas de différence» si le nombre de réponses correctes est supérieur ou égal à la valeur du tableau.

n	α					n	α				
	0,20	0,10	0,05	0,01	0,001		0,20	0,10	0,05	0,01	0,001
6	4	5	5	6	—	27	12	13	14	16	18
7	4	5	5	6	7	28	12	14	15	16	18
8	5	5	6	7	8	29	13	14	15	17	19
9	5	6	6	7	8	30	13	14	15	17	19
10	6	6	7	8	9						
						31	14	15	16	18	20
11	6	7	7	8	10	32	14	15	16	18	20
12	6	7	8	9	10	33	14	15	17	18	21
13	7	8	8	9	11	34	15	16	17	19	21
14	7	8	9	10	11	35	15	16	17	19	22
15	8	8	9	10	12						
						36	15	17	18	20	22
16	8	9	9	11	12	42	18	19	20	22	25
17	8	9	10	11	13	48	20	21	22	25	27
18	9	10	10	12	13	54	22	23	25	27	30
19	9	10	11	12	14	60	24	26	27	30	33
20	9	10	11	13	14	66	26	28	29	32	35
21	10	11	12	13	15	72	28	30	32	34	38
22	10	11	12	14	15	78	30	32	34	37	40
23	11	12	12	14	16	84	33	35	36	39	43
24	11	12	13	15	16	90	35	37	38	42	45
25	11	12	13	15	17	96	37	39	41	44	48
26	12	13	14	15	17	102	39	41	43	46	50

ANNEXE 3**Formulaire de réponse pour l'analyse sensorielle olfactive****Sujet n° :****Date :****Nom :**

Cinq séries de 3 échantillons de jambon cuit vous sont présentées. Pour chaque série, deux d'entre eux sont identiques et un autre différent.

Série 1 : Sentir attentivement chaque échantillon suivant l'ordre de présentation et indiquer, dans la case correspondant à la série, l'échantillon qui est différent. Si vous souhaitez faire un commentaire sur les raisons de votre choix ou sur les caractéristiques des échantillons, vous pouvez le faire dans la rubrique «Commentaires».

349

235

553

Commentaires :

Série 2 : Sentir attentivement chaque échantillon suivant l'ordre de présentation et indiquer, dans la case correspondant à la série, l'échantillon qui est différent. Si vous souhaitez faire un commentaire sur les raisons de votre choix ou sur les caractéristiques des échantillons, vous pouvez le faire dans la rubrique «Commentaires».

149

961

485

Commentaires :

Série 3 : Sentir attentivement chaque échantillon suivant l'ordre de présentation et indiquer, dans la case correspondant à la série, l'échantillon qui est différent. Si vous souhaitez faire un commentaire sur les raisons de votre choix ou sur les caractéristiques des échantillons, vous pouvez le faire dans la rubrique «Commentaires».

332

107

527

Commentaires :

ANNEXE 4**1- Composition en acide gras du jambon cuit (Résultat INOVALYS)**

	Jambon témoin		Jambon pressurisé	
	% d'acides gras totaux	g/kg de jambon	% d'acides gras totaux	g/kg de jambon
Acides gras saturés AGS	37,67 ± 0,51	6,87 ± 0,94	37,77 ± 1,03	6,33 ± 0,47
Acides gras mono-insaturés AGMI	48,73 ± 1,24	8,76 ± 1,44	48,57 ± 1,75	8,03 ± 0,91
Acides gras poly-insaturés AGPI	13,6 ± 0,78	2,39 ± 0,23	13,6 ± 0,82	2,21 ± 0,11
Acides gras trans AGTR	0,1 ± 0,00	0,027 ± 0,00	0,1 ± 0,00	0,02 ± 0,00
Acides gras cis AGCI	62,2 ± 0,57	11,13 ± 1,66	62,07 ± 0,98	10,21 ± 0,91
Acides gras omega 3	0,77 ± 0,07	0,14 ± 0,01	0,7 ± 0,00	0,11 ± 0,00
Acides gras omega 6	12,8 ± 0,69	2,26 ± 0,22	12,9 ± 0,82	2,10 ± 0,10

2- Profil des acides gras du jambon cuit (Résultat INOVALYS)

		Témoin		HP	
		%	g/kg	%	g/kg
C10:0	Acide n-caprique	0,10	0,02	0,10	0,02
C12:0	Acide laurique	0,10	0,02	0,10	0,01
C14:0	Acide myristique	1,27	0,23	1,23	0,21
C16:0	Acide palmitique	23,13	4,23	23,10	3,89
C16:1 (n-7) cis	Acide palmitoléique	3,27	0,59	3,23	0,54
C17:0	Acide margarique	0,20	0,04	0,20	0,03
C18:0	Acide stéarique	12,40	2,24	12,50	2,08
C18:1 (n-9) trans	Acide élaïdique	0,10	0,03	0,10	0,02
C18:1 (n-9) cis	Acide oléique	40,30	7,24	40,27	6,65
C18:1 (n-7) cis	Acide cis -Vaccénique	4,30	0,78	4,23	0,7
C18:2 (n-6) cis	Acide linoléique	9,40	1,67	9,43	1,54
C20:0	Acide arachidique	0,20	0,03	0,20	0,03
C18:3 (n-6) cis	Acide gamma-linoléique	0,10	0,02	0,10	0,02
C20:1 (n-9) cis	Acide Gadoléique	0,70	0,13	0,70	0,11
C18:3 (n-3) cis	Acide alpha-linolénique	0,30	0,05	0,30	0,04
C20:2 (n-6) cis	Acide eicosadiénoïque	0,33	0,06	0,30	0,05
C20:3 (n-6) cis	Acide di-homo-gamma-linolénique	0,30	0,05	0,30	0,05
C20:3 (n-3) cis		0,10	0,01	0,10	0,01
C20:4 (n-6) cis	Acide arachidonique	2,37	0,41	2,40	0,38
C20:5 (n-3) cis	Acide eicosapentaénoïque	0,10	0,01	0,10	0,01
C22:4 (n-6) cis	Acide Docosatétraénoïque	0,33	0,06	0,40	0,06
C22:5 (n-3) cis	Acide Docosapentaénoïque	0,23	0,04	0,20	0,07
C22:6 (n-3) cis	Acide Docosahexaénoïque	0,10	0,01	0,10	0,01

ANNEXE 5**ANALYSES STATISTIQUES SUR LES RESULTATS D'OXYDATION DES LIPIDES****1. Résultats de l'analyse de variance à 3 facteurs pour les teneurs en MDA et TBARS (cf Partie Résultat III.1.1)**

Résultat de l'ANOVA sur la teneur en MDA en fonction de la pression (avec ou sans pression), de la biopréservation (biopréservé ou non) et du temps de stockage (J+1, J+7, J+14, J+21)

Analyse de variance pour MDA - Somme des carrés de type III

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
A:Biopréservation	146,825	1	146,825	426,49	0,0000
B:Traitement HP	239,279	1	239,279	695,04	0,0000
C:Stockage	114,603	3	38,2011	110,96	0,0000
INTERACTIONS					
AB	162,031	1	162,031	470,66	0,0000
AC	63,5466	3	21,1822	61,53	0,0000
BC	124,33	3	41,4434	120,38	0,0000
ABC	72,2834	3	24,0945	69,99	0,0000
RESIDU	11,0165	32	0,344265		
TOTAL (CORRIGE)	933,915	47			

Résultat de l'ANOVA sur la teneur en MDA en fonction de la pression (avec ou sans pression), de la biopréservation (biopréservé ou non) et du temps de stockage (J+1, J+7, J+14, J+21)

Analyse de variance pour TBARS - Somme des carrés de type III

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
A:Biopréservation	207,917	1	207,917	1267,54	0,0000
B:Traitement HP	229,6	1	229,6	1399,73	0,0000
C:Stockage	142,05	3	47,3499	288,66	0,0000
INTERACTIONS					
AB	150,663	1	150,663	918,50	0,0000
AC	65,806	3	21,9353	133,73	0,0000
BC	130,127	3	43,3755	264,43	0,0000
ABC	72,1274	3	24,0425	146,57	0,0000
RESIDU	5,249	32	0,164031		
TOTAL (CORRIGE)	1003,54	47			

2. Résultats de l'analyse de variance pour les teneurs en MDA et TBARS en fonction de traitement hautes pressions et du stockage (cf Partie Résultat III.1.1-b)

Résultat de l'ANOVA sur la teneur en MDA en fonction du traitement hautes pressions et du stockage

Analyse de variance pour MDA - Somme des carrés de type III

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
A:Traitement HP	3,7525	1	3,7525	94,02	0,0000
B:Stockage	4,39425	3	1,46475	36,70	0,0000
INTERACTIONS					
AB	3,85115	3	1,28372	32,16	0,0000
RESIDU	0,6386	16	0,0399125		
TOTAL (CORRIGE)	12,6365	23			

Analyse de variance pour TBARS - Somme des carrés de type III

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
A:Traitement HP	4,1417	1	4,1417	40,96	0,0000
B:Stockage	8,58991	3	2,8633	28,32	0,0000
INTERACTIONS					
AB	5,04601	3	1,682	16,63	0,0000
RESIDU	1,61793	16	0,101121		
TOTAL (CORRIGE)	19,3956	23			

1. Résultats de l'analyse de variance pour les teneurs en MDA et TBARS en fonction de la biopréservation et du stockage (cf Partie Résultat III.1.1-c)

Résultat de l'ANOVA sur la teneur en MDA en fonction de la biopréservation et du stockage

Analyse de variance pour MDA (i) - Somme des carrés de type III

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
A:Biopréservation	0,187267	1	0,187267	2,89	0,1085
B:Stockage (i)	0,742633	3	0,247544	3,82	0,0307
INTERACTIONS					
AB	0,254567	3	0,0848556	1,31	0,3057
RESIDU	1,03667	16	0,0647917		
TOTAL (CORRIGE)	2,22113	23			

Résultat de l'ANOVA sur la teneur en TBARS en fonction de la biopréservation et du stockage

Analyse de variance pour TBARS (i) - Somme des carrés de type III

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
A:Biopréservation	2,3002	1	2,3002	11,98	0,0032
B:Stockage (i)	2,66935	3	0,889782	4,63	0,0162
INTERACTIONS					
AB	0,960746	3	0,320249	1,67	0,2139
RESIDU	3,0728	16	0,19205		
TOTAL (CORRIGE)	9,0031	23			

2. Résultats de l'analyse de variance pour les teneurs en MDA et TBARS en fonction de la du traitement combiné et du stockage (cf Partie Résultat III.1.1-d)

Résultat de l'ANOVA sur la teneur en MDA en fonction du traitement combiné et du stockage

Analyse de variance pour MDA (ii) - Somme des carrés de type III

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
A:Traitement combiné	380,488	1	380,488	646,52	0,0000
B:Stockage (ii)	183,316	3	61,1054	103,83	0,0000
INTERACTIONS					
AB	182,417	3	60,8058	103,32	0,0000
RESIDU	9,41627	16	0,588517		
TOTAL (CORRIGE)	755,638	23			

Résultat de l'ANOVA sur la teneur en TBARS en fonction du traitement combiné et du stockage

Analyse de variance pour TBARS (ii) - Somme des carrés de type III

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
A:Traitement combiné	437,248	1	437,248	6723,45	0,0000
B:Stockage (ii)	205,844	3	68,6147	1055,07	0,0000
INTERACTIONS					
AB	187,914	3	62,6379	963,17	0,0000
RESIDU	1,04053	16	0,0650333		
TOTAL (CORRIGE)	832,047	23			

ANNEXE 6

ANALYSES STATISTIQUES SUR LES RESULTATS D'OXYDATION DES LIPIDES

Résultats de l'ANOVA sur la teneur en fer libre en fonction de la pression (avec ou sans pression), de la biopréservation (biopréservé ou non) et du temps de stockage (J+1, J+7, J+14, J+21)

Analyse de variance pour Teneur en fer libre - Somme des carrés de type III

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
A:Biopréservation	0,0450187	1	0,0450187	2,12	0,1547
B:Traitement HP	2,66492	1	2,66492	125,77	0,0000
C:Stockage	3,72827	3	1,24276	58,65	0,0000
INTERACTIONS					
AB	0,0336021	1	0,0336021	1,59	0,2170
AC	0,102873	3	0,034291	1,62	0,2045
BC	1,45121	3	0,483735	22,83	0,0000
ABC	0,0843896	3	0,0281299	1,33	0,2826
RESIDU	0,678067	32	0,0211896		
TOTAL (CORRIGE)	8,78835	47			

ANNEXE 7

1. Tableau des coefficients de corrélation de Pearson montrant la corrélation entre les différents paramètres étudiés

Variables	pH	CRE	Exsudation	a*	Dureté	Cohésion	Solubilité des protéines	ΔH	Fer libre	Composés carbonylés	Thiols libres	Thiols accessibles	MDA	TBARS	Digestibilité pepsique	t _{1/2} Pepsique	Digestibilité trypsique	t _{1/2} trypsique
pH	1																	
CRE	0,162	1																
Exsudation	-0,264	-0,655	1															
a*	-0,013	-0,421	0,277	1														
Dureté	0,503	0,084	-0,035	-0,143	1													
Cohésion	0,196	0,050	0,070	-0,157	0,635	1												
Solubilité des protéines	-0,053	0,396	-0,380	-0,223	-0,333	0,295	1											
ΔH	-0,058	0,257	-0,274	-0,097	0,327	0,210	0,602	1										
Fer libre	0,322	-0,677	0,555	0,362	0,133	-0,032	-0,361	-0,499	1									
Composés carbonylés	-0,257	-0,285	0,151	0,255	-0,443	-0,331	-0,258	-0,515	0,247	1								
Thiols libres	-0,084	0,457	-0,396	-0,300	-0,042	-0,041	0,263	0,185	-0,425	-0,024	1							
Thiols accessibles	0,197	0,585	-0,483	-0,332	0,118	0,031	0,178	-0,018	-0,309	0,076	0,648	1						
MDA	0,290	-0,196	0,144	0,230	-0,106	-0,088	-0,087	-0,578	0,634	0,245	-0,116	-0,154	1					
TBARS	0,220	-0,235	0,195	0,262	-0,135	-0,114	-0,104	-0,599	0,644	0,300	-0,150	-0,176	0,989	1				
Digestibilité pepsique	-0,492	-0,416	0,304	0,013	-0,538	-0,350	-0,469	-0,422	0,071	-0,529	-0,199	-0,249	-0,070	-0,014	1			
t _{1/2} pepsique	0,545	0,190	-0,114	-0,203	0,827	0,619	0,419	0,229	0,145	0,447	0,117	0,232	0,116	0,072	-0,716	1		
Digestibilité trypsique	-0,541	-0,289	0,193	0,031	-0,556	-0,335	-0,312	-0,182	-0,138	-0,388	-0,238	-0,399	-0,203	-0,155	0,897	-0,742	1	
t _{1/2} trypsique	0,375	0,065	-0,278	-0,020	0,315	0,193	0,111	0,521	-0,211	0,394	-0,021	-0,191	-0,375	-0,424	-0,152	0,128	0,064	1

Corrélation forte



Corrélation moyenne



Corrélation faible



1. Valeur de *p-value* (Pearson) indiquant la significativité de la corrélation entre les différents paramètres étudiés

Variables	pH	CRE	Exsudation	a*	Dureté	Cohésion	Solubilité des protéines	ΔH	Fer libre	Composés carbonylés	Thiols libres	Thiols accessibles	MDA	TBARS	Digestibilité pepsique	t1/2 pepsique	Digestibilité trypsique	t1/2 trypsique
pH	0																	
CRE	0,272	0																
Exsudation	0,070	< 0,0001	0															
a*	0,932	0,003	0,057	0														
Dureté	0,000	0,572	0,813	0,333	0													
Cohésion	0,183	0,733	0,637	0,287	< 0,0001	0												
Solubilité des protéines	0,718	0,005	0,008	0,128	0,021	0,042	0											
ΔH	0,695	0,078	0,060	0,511	0,023	0,151	< 0,0001	0										
Fer libre	0,026	< 0,0001	< 0,0001	0,011	0,368	0,827	0,012	0,000	0									
Composés carbonylés	0,078	0,050	0,306	0,080	0,002	0,022	0,077	0,000	0,090	0								
Thiols libres	0,569	0,001	0,005	0,039	0,775	0,784	0,071	0,208	0,003	0,874	0							
Thiols accessibles	0,179	< 0,0001	0,001	0,021	0,426	0,832	0,227	0,904	0,032	0,608	< 0,0001	0						
MDA	0,045	0,181	0,329	0,115	0,473	0,551	0,558	< 0,0001	< 0,0001	0,093	0,432	0,295	0					
TBARS	0,133	0,108	0,184	0,073	0,359	0,442	0,482	< 0,0001	< 0,0001	0,038	0,308	0,232	< 0,0001	0				
Digestibilité pepsique	0,000	0,003	0,036	0,929	< 0,0001	0,015	0,001	0,003	0,630	0,000	0,176	0,087	0,637	0,924	0			
t1/2 pepsique	< 0,0001	0,195	0,439	0,166	< 0,0001	< 0,0001	0,003	0,118	0,325	0,001	0,427	0,112	0,432	0,626	< 0,0001	0		
Digestibilité trypsique	< 0,0001	0,047	0,188	0,834	< 0,0001	0,020	0,031	0,215	0,351	0,006	0,103	0,005	0,166	0,294	< 0,0001	< 0,0001	0	
t1/2 trypsique	0,009	0,659	0,056	0,893	0,029	0,190	0,452	0,000	0,151	0,006	0,885	0,194	0,009	0,003	0,301	0,385	0,667	0

Titre : Procédé innovant de stabilisation du jambon cuit combinant hautes pressions et biopréservation

Mots clés : hautes pressions, biopréservation, jambon, digestibilité, protéine, lipide.

Résumé : Le projet BLacHP (ANR-14-CE20-0004) vise à développer une stratégie pour stabiliser les produits carnés et diminuer voire supprimer l'utilisation d'additifs chimiques tels que les nitrites qui sont utilisés pour prévenir la prolifération bactérienne et conférer au produit ses propriétés sensorielles. La stratégie adoptée est la combinaison de deux traitements barrière : la biopréservation par *Lactococcus lactis* et un traitement par hautes pressions (500 MPa, 20 °C, 5 min). Cette thèse a pour objectif d'évaluer l'impact du traitement combiné sur les propriétés technologiques, nutritionnelles et organoleptiques du jambon cuit à teneur réduite en nitrites (25 ppm). L'effet des deux procédés appliqués individuellement a également été étudié pour une

meilleure compréhension de l'impact de leur combinaison. Le traitement combiné a un effet modéré sur les paramètres technologiques (capacité de rétention d'eau, exsudation, texture, couleur) du jambon cuit. L'évaluation des produits d'oxydation montre que le traitement combiné induit une faible oxydation des lipides et des protéines au cours d'un stockage réfrigéré (4 °C, 21 jours). L'utilisation du traitement combiné augmente la vitesse de digestion des protéines. Le traitement par hautes pressions combiné à la biopréservation permet donc de maintenir la qualité globale du jambon cuit à teneur réduite en nitrites proche de celle du jambon cuit traditionnel, tout en assurant sa sécurité sanitaire.

Title: Innovative process for cooked ham stabilization combining high pressure processing and biopreservation

Keywords: high pressure processing, biopreservation, cooked ham, digestibility, protein, lipid.

Abstract: BLacHP project (ANR-14-CE20-0004) aims to develop a strategy to stabilize meat products and to reduce or even remove the use of chemical additives such as nitrites, which are used to prevent bacterial proliferation and confer the sensory properties of the product. The strategy adopted is the combination of two hurdle technology: biopreservation by *Lactococcus lactis* and high pressure processing (500 MPa, 20 °C, 5 min). The aim of this thesis is to evaluate the impact of the combined treatment on the technological, nutritional and organoleptic properties of cooked ham with reduced nitrite content (25 ppm). The effect of both treatment individually applied is also studied for a better understanding of the impact of their combination. The combined treatment has moderate

impact on the technological parameters of the cooked ham (water retention, exudation, texture, color). Evaluation of oxidation products shows that the combined treatment induces low oxidation of lipids and proteins during refrigerated storage. Moreover, the use of the combined treatment increases the protein digestion rate. Then, biopreservation combined with high pressure processing makes it possible to maintain the quality of cooked ham with a reduced nitrite content close to that of traditional cooked ham, while ensuring its sanitary safety.