



Hautes pressions et biopréservation : effets sur la qualité du jambon cuit

Synthèse du projet BLac HP : effet du traitement combiné sur les propriétés organoleptiques, technologiques et nutritionnelles du jambon cuit

Mots-clés : Hautes Pressions, Biopréservation, Impact organoleptique, Propriétés nutritionnelles

Auteurs : Anja Rakotondramavo¹, Marie de Lamballerie¹, Laurence Pottier¹

¹ GEPEA UMR-CNRS 6144, ONIRIS, rue de la Géraudière, CS 82225, 44322 Nantes Cedex 3, France

* E-mail de l'auteur correspondant : laurence.pottier@oniris-nantes.fr

Le projet BLac HP visait à montrer l'efficacité de combiner biopréservation par des bactéries lactiques et hautes pressions pour la conservation du jambon cuit à teneur réduite en nitrites. Cet article résume les principaux résultats obtenus en ce qui concerne les conséquences du traitement combiné sur les qualités du jambon cuit à teneur réduite en nitrites au cours du stockage réfrigéré.

Résumé :

Le projet BLacHP (ANR-14-CE20-0004) visait à développer une stratégie pour stabiliser les produits carnés à teneur réduite en nitrites, dans le cas de cette étude, du jambon cuit contenant 25 ppm de nitrites. La stratégie adoptée est la combinaison de deux traitements barrière : la biopréservation par *Lactococcus lactis* et un traitement par hautes pressions (500 MPa, 5 min).

Le traitement combiné a un effet modéré sur les paramètres technologiques (capacité de rétention d'eau, exsudation, texture, couleur) du jambon cuit. L'évaluation de l'oxydation des produits 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.

Abstract: High Pressure Processing combined with biopreservation: impact on cured ham characteristics

BLacHP project (ANR-14-CE20-0004) aims to develop a strategy to stabilize meat products with reduced nitrite content; experiments were carried out on cooked ham with 25 ppm of nitrites. The strategy adopted the combination of two hurdle technologies: biopreservation by *Lactococcus lactis* and high pressure processing (500 MPa, 5 min).

The combined treatment has moderate impact on the technological parameters of the cooked ham (water retention, exudation, texture, color). The evaluation of oxidation products shows that the combined treatment induces a 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 possible to maintain the quality of reduced nitrite content cooked ham close to that of traditional cooked ham, and ensures its sanitary safety.

INTRODUCTION

Le projet ANR BLacHP (ANR-14-CE20-0004 BLac HP) visait 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.

Très peu d'études se sont intéressées 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.

Tout d'abord, le développement de la flore endogène est suivi au cours d'un stockage réfrigéré. 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 : l'oxydation des lipides est estimée en suivant la production de produits secondaires d'oxydation lipidique au cours du stockage réfrigéré, et l'état des protéines (solubilité, dénaturation, oxydation, digestibilité) est évalué.

I. FABRICATION DU JAMBON CUIT ET METHODES D'ANALYSE

La fabrication du jambon cuit (Figure 1) a été effectuée selon la méthode de Thomas *et al.* (2013). Les viandes utilisées proviennent de muscles *Longissimus dorsi* de porc (4 jours *post mortem*). Les pièces retenues pour la fabrication ont un pH compris entre 5,5 et 6. La saumure est constituée de NaCl (4,58%), lactose (2,42%), saccharose (0,77%) et nitrite (0,0275%) et injectée à hauteur de 10% de façon à obtenir une teneur en nitrite d'environ 25 ppm dans le produit fini.

France ; Ramarason *et al.*, 2018) de façon à obtenir un niveau d'ensemencement de 10^6 UFC / g de jambon. 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 traités par hautes pressions (500 MPa, 5 minutes, 20 °C). Les produits obtenus sont alors conservés à 4 °C jusqu'à analyse. Un témoin (non biopréservé et non traité par hautes pressions) est également conservé à 4 °C pour comparaison. Les résultats présentés concernent les analyses réalisées après 1 et 21 jours de stockage (J1 et J21).

La flore aérobie mésophile a été dénombrée selon la norme NF EN ISO 4833 sur milieu PCA (Plate Count Agar). Après dénombrement, 15 à 20 colonies sont prélevées sur PCA pour identification.

L'évaluation de la capacité de rétention d'eau (CRE) a été effectuée par centrifugation selon une adaptation de la méthode de Duranton *et al.* (2012). L'exsudation a été évaluée par pesée avant et après essuyage à l'aide de papier absorbant, la couleur par spectrophotométrie, la texture par TPA. Le dosage du fer libre et la quantification des TBARS sont réalisés selon les méthodes de Villamonte *et al.* (2017). Les détails sur les méthodes utilisées sont consultables dans Rakotondramavo *et al.* (2019).

La dénaturation des protéines est évaluée par calorimétrie à balayage différentiel (Villamonte *et al.*, 2013) alors que l'oxydation protéique est évaluée par quantification des composés carbonylés par le DNPH (2,4-DiNitroPhenylHydrazine ; Lévine *et al.*, 1994). Enfin, afin d'évaluer l'effet du procédé sur la digestibilité des protéines du jambon cuit, une digestion enzymatique a été effectuée en utilisant de la pepsine. Deux paramètres ont été déterminés : i) l'absorbance maximale, qui est un bon indice du niveau de protéolyse et ii) le temps de demi-vie de la réaction ($t_{1/2}$) qui mesure la vitesse de digestion (Gatellier & Santé-Lhoutellier, 2009 ; Rakotondramavo *et al.*, 2019).

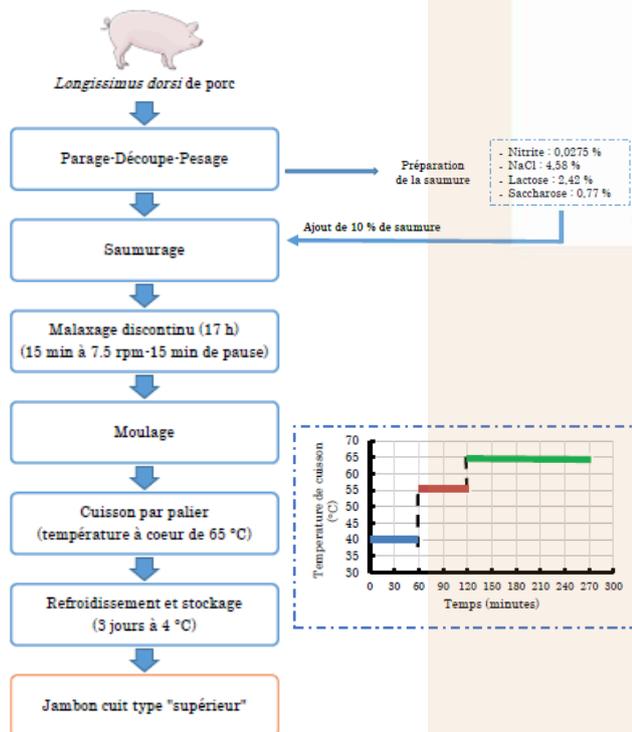


Figure 1 : Diagramme de fabrication du jambon cuit

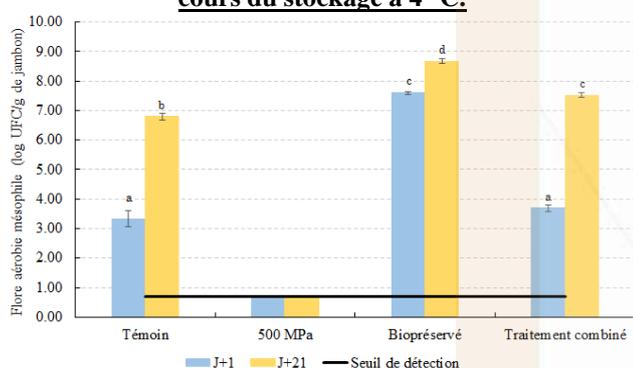
Après refroidissement, les jambons sont cubés et la biopréservation est réalisée par pulvérisation en surface d'une suspension de *Lactococcus lactis* (CH-HP15, CHR Hansen,

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

II.1. Évolution des flores mésophile et lactique au cours du stockage.

Les résultats de dénombrement sur PCA (Figure 2) montrent que 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 J21. Le procédé par hautes pressions réduit la flore aérobienne mésophile en-dessous du seuil de détection (1 log UFC/g) jusqu'à 21 jours. L'ajout de *L. lactis* augmente la flore aérobienne mésophile initiale à $7,72 \pm 0,03$ log UFC/g. Le niveau de charge microbienne augmente légèrement mais significativement ($p < 0,05$) à J+21 ($8,67 \pm 0,07$ log UFC/g).

Figure 2 : Évolution de la flore aérobienne mésophile au cours du stockage à 4 °C.



Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les échantillons ($p < 0,05$).

Le traitement par hautes pressions réduit fortement la charge microbienne du jambon cuit biopréservé. A J1, le nombre de bactéries aérobies mésophiles est de $4,43 \pm 0,10$ log UFC/g pour l'échantillon biopréservé puis pressurisé. 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 bactéries de *L. lactis* ensemencées. L'identification des bactéries isolées sur milieu PCA a confirmé que la totalité des bactéries isolées sur l'échantillon de jambon cuit biopréservé puis pressurisé correspond effectivement à *L. lactis*.

En conclusion, il apparaît qu'après le traitement par hautes pressions, *L. lactis* reprend sa croissance, se développe et domine la flore endogène au cours du stockage. *L. lactis* est

donc susceptible d'inhiber les bactéries d'altération et les bactéries pathogènes.

II.2. Évolution des propriétés technologiques et organoleptiques au cours du stockage

Le pH initial du jambon cuit est égal à 5,9 aussi bien pour l'échantillon témoin que pour celui ayant reçu le traitement combiné (tableau 1). Au cours du stockage, le pH chute de 0,1 unité pour le produit témoin, cette diminution correspond au développement microbien qui survient au cours du stockage. Au contraire le pH augmente de 0,1 unité pour l'échantillon traité : soit la flore lactique ayant résisté au traitement par hautes pressions n'a pas retrouvé sa capacité d'acidification normale, soit les bactéries qui ont survécu sont des espèces moins acidifiantes. L'augmentation du pH par la pression est un phénomène documenté mais pas élucidé pour divers produits.

La capacité de rétention d'eau (CRE) des échantillons est identique qu'ils aient ou non reçu le traitement, seule la durée de stockage modifie cette valeur qui diminue légèrement à J21 (tableau 1). L'application du traitement combiné n'a donc pas d'incidence sur la capacité du produit à retenir l'eau présente dans la matrice.

L'exsudation rend compte de la perte de liquide par le produit, qui constitue un problème important pour les produits carnés emballés sous vide car les consommateurs y associent un manque de jutosité du produit. Comme observé pour la CRE, la durée de stockage implique une augmentation de l'exsudation par la matrice, et non le traitement appliqué. On observe peu d'effet du traitement combiné et de la durée de stockage sur la dureté et la cohésion si ce n'est une légère augmentation de la dureté à J1 après le traitement combiné liée à l'application de la pression (des essais sur le produit ayant subi uniquement le traitement par hautes pressions ou uniquement la biopréservation ont permis de s'en assurer). Cependant, après 21 jours de stockage, cette différence disparaît ce qui peut être dû à un début de protéolyse par les bactéries lactiques qui entraînerait une modification de la texture. La couleur n'est pas impactée par le traitement, seule la durée de stockage semble avoir un effet très limité sur l'indice de rouge a^* qui augmente d'une unité.

Tableau 1 : Évolution des propriétés technologiques du jambon cuit avant ou non subi le traitement combiné au cours du stockage à 4 °C.

		pH	CRE	Exsudation	Dureté	Cohésion	a^*	b^*	L^*
		(-)	(%)	(%)	(N)	(-)	(-)	(-)	(-)
Jambon Témoin	J1	5,90±0,03 ^a	42,9±1,7 ^a	6,11±2,1a	32,46±3,2a	0,67±0,03a	2,91±0,45 ^a	8,10±0,36 ^a	61,59±0,84 ^a
	J21	5,79±0,05 ^b	39,4±1,1 ^b	9,12±2,2ab	34,45±4,0a	0,66±0,04a	4,34±0,33 ^b	7,29±0,44 ^a	62,81±0,91 ^a
Jambon ayant reçu le traitement combiné	J1	5,88±0,01 ^a	44,9±1,4 ^a	7,14±1,5ab	38,57±42,8b	0,66±0,03a	2,98±0,42 ^a	8,05±0,32 ^a	61,35±0,56 ^a
	J21	6,00±0,01 ^c	38,6±1,4 ^b	10,63±1,6b	30,71±2,2a	0,64±0,02a	4,12±0,84 ^b	8,18±0,91 ^a	61,09±2,14 ^a

Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les échantillons ($p < 0,05$).

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

III.1. Traitement combiné et oxydation des lipides du jambon cuit

Les réactions d'oxydation sont une des principales causes de détérioration de la qualité des produits carnés. En particulier, l'oxydation des lipides peut conduire au rancissement, à une dégradation sensorielle et à une diminution des qualités nutritionnelles du produit. Dans cette étude, l'oxydation lipidique a été évaluée par la mesure de la teneur en TBARS (Tableau 2). Les résultats montrent une augmentation (+47%) de l'oxydation lipidique au cours du stockage réfrigéré pour le produit témoin. Les différences sont beaucoup plus importantes sur le produit ayant reçu le traitement combiné : dès J1 les TBARS augmentent de façon très significative (+168%) et cette augmentation se confirme au cours du stockage (+434%). Une des hypothèses pouvant expliquer cette augmentation est la libération de fer libre, pro-oxydant, qui serait entraînée lors du traitement combiné sous l'effet des hautes pressions (Guyon *et al.*, 2016). Tout d'abord, il apparaît qu'à J1 le traitement combiné n'a pas d'effet sur la teneur en fer libre du jambon cuit. Cette teneur reste globalement constante au cours du stockage pour l'échantillon témoin alors qu'une augmentation de 50% est observée chez l'échantillon traité. Des études complémentaires tendent à montrer que c'est bien l'effet des hautes pressions qui provoque l'ouverture du noyau porphyrinique de la myoglobine et la libération du fer (Jalarama Reddy *et al.*, 2015). Dans le cas du jambon cuit, l'oxydation lipidique serait donc bien accentuée par le relargage du fer induit par le traitement par hautes pressions.

III.2. Effet du traitement combiné sur les protéines du jambon cuit

À J21, la solubilité des protéines du jambon cuit témoin ne présente pas de différence significative avec la solubilité à J1. Cependant, une diminution de la solubilité de 60% est observée chez le jambon cuit après le traitement combiné (Tableau 2). Cette diminution de la solubilité est le reflet d'une dénaturation plus poussée au cours du stockage réfrigéré dans le cas du produit traité. Les enthalpies de

dénaturation le confirment : elles restent stables au cours du stockage pour le jambon témoin alors que pour le jambon ayant reçu le traitement combiné une diminution de 40% est observée dès J1 puis à J21 : le temps de stockage et le traitement semblent donc tous deux induire une dénaturation du produit. L'oxydation des protéines a été évaluée pour les différents échantillons. Après 21 jours de stockage, la teneur en composés carbonyles du jambon témoin reste stable. De plus, on n'observe pas d'effet du traitement sur cette grandeur à J1. Par contre, à J21, une augmentation considérable de la teneur en carbonyles est observée (+28%) dans l'échantillon traité : le traitement favorise donc la formation de composés carbonyles au cours du stockage. L'activité protéolytique des *L. lactis* peut conduire à la libération d'acides aminés dans le milieu, en se liant avec les produits de l'oxydation lipidique, et formeraient des composés carbonyles.

III.3. Effet du traitement combiné sur la digestibilité des protéines du jambon cuit

L'effet du temps de stockage et du traitement a été évalué sur la digestibilité pepsique *in vitro* via la détermination de 2 grandeurs : le taux maximal de digestion (D_{max}) et la vitesse de digestion en évaluant le temps de demi-vie ($t_{1/2}$, temps nécessaire pour atteindre la dégradation de la moitié de D_{max}) (Gatellier & Santé-Lhoutellier, 2009). Tout d'abord, ni le temps de stockage ni le traitement n'ont d'effet sur le taux maximal de digestion. De même pour le jambon témoin la vitesse de digestion n'est pas affectée par la durée de stockage. Par contre, on observe une modification de la vitesse de digestion du jambon ayant été traité par biopréservation puis hautes pressions. À J1, $t_{1/2}$ augmente par rapport au jambon témoin ce qui reflète une diminution de la vitesse de digestion et pourrait être lié au fait que le traitement hautes pressions provoque une agrégation immédiate des protéines et donc limite l'accès de la pepsine aux sites de clivage protéique. Au contraire à J21, $t_{1/2}$ diminue ce qui reflète une augmentation de la vitesse de digestion ; dans ce cas l'hypothèse la plus vraisemblable est qu'au cours des 21 jours de stockage, l'activité protéolytique des bactéries *L. lactis* s'est accrue, ce qui conduirait à une hydrolyse des protéines du jambon cuit traité, et faciliterait l'action protéolytique de la pepsine.

Tableau 2 : Évolution des propriétés nutritionnelles du jambon cuit ayant ou non subi le traitement combiné au cours du stockage à 4 °C.

		TBARS	Fer libre	Solubilité	Enthalpie totale	Composés carbonyles	D_{max}	$t_{1/2}$
		(nmoles éq MDA/g de jambon)	($\mu\text{g/g}$ de jambon)	(mg de protéine/g de jambon)	(J/g de matière sèche)	($\mu\text{moles/g}$ de protéines)	(%)	(min)
Jambon Témoin	J1	1,17 \pm 0,20 ^a	0,81 \pm 0,20 ^a	13,95 \pm 0,75 ^a	3,06 \pm 1,40 ^a	1,48 \pm 0,20 ^a	42,03 \pm 0,39 ^a	23,49 \pm 0,60 ^a
	J21	1,67 \pm 0,09 ^b	0,76 \pm 0,08 ^a	12,03 \pm 1,72 ^a	2,80 \pm 0,04 ^a	1,40 \pm 0,29 ^a	42,02 \pm 0,34 ^a	24,21 \pm 0,27 ^a
Jambon ayant reçu le traitement combiné	J1	3,14 \pm 0,34 ^c	1,20 \pm 1,11 ^a	12,08 \pm 3,10 ^a	1,86 \pm 0,04 ^b	1,71 \pm 0,04 ^a	41,90 \pm 0,52 ^a	27,47 \pm 1,07 ^b
	J21	8,92 \pm 0,57 ^d	1,81 \pm 0,10 ^b	4,79 \pm 0,74 ^b	1,33 \pm 0,15 ^c	2,36 \pm 0,11 ^b	43,44 \pm 0,28 ^a	17,39 \pm 1,29 ^c

Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les échantillons ($p < 0,05$).

CONCLUSION

Dans le cadre du projet Blac HP (ANR-14-CE20-0004 BLac HP), cette étude visait à évaluer l'impact du traitement combiné biopréservation et hautes pressions sur les qualités technologiques et nutritionnelles du jambon cuit à teneur réduite en nitrite. Dans un premier temps, il a été vérifié que la souche de biopréservation (*L. lactis*) choisie lors des étapes précédentes du projet s'implante bien sur le produit, qu'elle reprend en croissance après le traitement hautes pressions et domine la flore endogène pendant le stockage réfrigéré.

En ce qui concerne les qualités technologiques (exsudation, CRE) et organoleptiques (texture, couleur), celles-ci sont très peu modifiées par le traitement combiné, ce qui permet d'envisager l'utilisation de ce traitement d'un point de vue industriel. Cependant, le traitement a des conséquences sur les qualités nutritionnelles du produit. Tout en restant dans des gammes relativement basse, il apparaît que l'oxydation des lipides augmente après le traitement. Des différences plus importantes s'observent au niveau des protéines (Figure 3). Il est connu que le procédé de fabrication du jambon, incluant les étapes de saumurage et de cuisson, est déjà à l'origine de dénaturation et d'oxydation des protéines conduisant à leur agrégation. Cependant, le traitement combiné accentue ces modifications des protéines : le traitement par hautes pressions a tendance à diminuer la

solubilité et à augmenter l'agrégation des protéines. La souche de biopréservation, lorsqu'elle se développe au cours du stockage réfrigéré, provoque un début de protéolyse de la matrice modifiant ainsi la vitesse de digestion du jambon cuit.

La combinaison de la biopréservation et des hautes pressions permet d'obtenir un jambon cuit à teneur réduite en nitrite proche du jambon cuit traditionnel : ce traitement permet d'assurer la sécurité microbiologique, 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 digestion des protéines.

Toutefois, cette étude soulève plusieurs questions qui méritent des études plus approfondies. Le dosage des autres formes de fer devra être effectué afin 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 et en acides gras insaturés. Une identification des acides aminés issus de la digestion serait également intéressante, afin de comprendre le mécanisme protéolytique induit par le traitement.

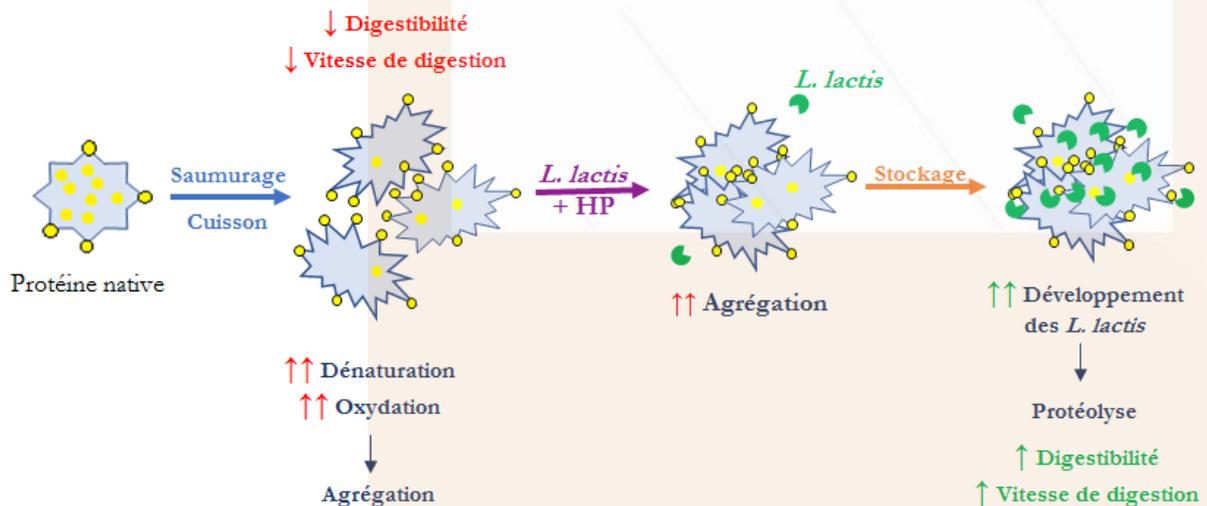


Figure 3 : Synthèse de l'effet du traitement combiné sur les protéines lors de la fabrication de jambon cuit
(Rakotondramavo, 2019)

Références :

- Duranton F., Guillou S., Simonin H., Chéret R., de Lamballerie M. (2012). Combined use of high pressure and salt or sodium nitrite to control the growth of endogenous microflora in raw pork meat. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 16, 373–380.
- Gatellier P., Santé-Lhoutellier V. (2009). Digestion study of proteins from cooked meat using an enzymatic microreactor. *Meat Science*, 81(2), 405-409.
- Guyon C., Meynier A., de Lamballerie M. (2016). Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on high-pressure treatments. *Trends Food Sci. Technol.* 50, 131–143.
- 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.

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.

Rakotondramavo (2019). Procédé innovant de stabilisation du jambon cuit combinant hautes pressions et biopréservation. Thèse de doctorat. Université de Nantes.

Rakotondramavo A., Rabesona H., Brou C., de Lamballerie M., Pottier L. (2019). Ham processing: Effects of tumbling, cooking and high pressure on proteins. *European Food Research and Technology*. 245(2), 273-284.

Ramaroson M., Guillou S., Rossero A., Rezé S., Anthoine V., Moriceau N., Martin J.L., Durantont 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.

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.

Villamonte G., Simonin H., Durantont 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

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.