

MESURE DE L'ABSORPTION D'OXYGÈNE PAR LES FARINES DE POISSON. APPLICATION A LEUR STABILISATION PAR LES ANTIOXYGÈNES

J. FLANZY, G. ROCQUELIN, Andrée PIHET

avec la collaboration technique de Jacqueline MEUROT et Chantal BOUFLERS

*Station centrale de Recherches de Nutrition,
Centre national de Recherches zootechniques, Jouy-en-Josas (Seine-et-Oise)*

SOMMAIRE

Parmi toutes les méthodes proposées pour mesurer l'altération des graisses par l'oxygène atmosphérique, que nous avons testées au laboratoire, celle qui consiste à mesurer l'absorption d'oxygène est la plus valable dans le cas de mélanges lipidiques complexes.

Nous avons appliqué cette méthode aux farines de poisson, traitées ou non aux antioxygènes. Nos résultats permettent d'affirmer qu'à la dose de 0,1 p. 100 les antioxygènes utilisés, le Santoquin (1,2-dihydro-6-éthoxy-2, 2, 4-triméthylquinoline) et le BIIT (buthyl-hydroxy-toluène) ralentissent l'absorption d'oxygène par ces farines.

Par l'emploi de ces substances auxiliaires, on peut donc, d'une part, supprimer les inconvénients d'ordre technologique tels que la carbonisation des farines au cours du transport, d'autre part, supposer que la diminution de l'absorption d'oxygène s'accompagne d'un abaissement de la concentration des produits formés au cours de l'autoxydation des lipides, produits qui seraient responsables de certains accidents alimentaires.

INTRODUCTION

Parmi les causes de dépréciation des farines de poisson (origine de la matière première, traitements thermiques, mode de stockage) celle qui est due à l'altération de la matière grasse tient une place importante. En effet, les acides gras qui entrent dans la composition des graisses de poisson présentent, en moyenne, un fort degré d'insaturation dû à la présence de certains acides gras polyinsaturés, conjugués ou non, caractéristiques de ces animaux.

Ces acides sont très autoxydables et peuvent provoquer au cours de la cuisson et pendant le stockage, des transformations de type oxydatif conduisant à des altérations profondes du produit fini.

Les conséquences de ces altérations peuvent se traduire par deux types d'inconvénients :

— Inconvénients d'ordre nutritionnel : on se bornera à rappeler que le problème des graisses oxydées est un problème d'actualité et fait l'objet de nombreuses recherches de la part des nutritionnistes : signalons que les opinions des différents chercheurs ne concordent pas toujours, du fait même de la complexité des facteurs qui interviennent dans cette étude.

— Inconvénients d'ordre technologique et économique : après leur fabrication, les farines sont stockées en tas ; il se produit alors au sein de cette masse, en particulier lorsque les conditions climatiques sont défavorables, une élévation de température qui conduit parfois à une carbonisation du produit le rendant inutilisable.

L'objet de notre travail est d'étudier la possibilité d'inhiber, de retarder, ou de ralentir cette altération oxydative au moyen des antioxygènes de synthèse.

Certains auteurs ont déjà abordé ce problème. Nous citerons par exemple les travaux de LEA et CARPENTER (1958-1960) et ceux de MARCH *et al.* (1961-1962).

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

A. — OBTENTION ET NATURE DES LOTS

Les farines étudiées provenaient soit de la cuisson de poissons entiers soit de celle de déchets de filetage ou de maréyage.

La cuisson a été conduite à 100° C et le séchage effectué à des températures ne dépassant pas 120° C.

L'addition des antioxygènes, BHT (butyl-hydroxy-toluène) et Santoquin (1,2-dihydro-6-éthoxy-2,2,4-triméthylquinoline) a été faite lors du chargement des cuiseurs. Leur concentration a été calculée par rapport au poids de farine sèche.

Dans chacun des essais, les cuiseurs ont été chargés avec 1 100 kg de produit frais ; on a obtenu 400 kg de farine (la cuisson et le séchage duraient environ 3 h). Un échantillon moyen de 5 kg a été prélevé pour les examens ultérieurs au laboratoire.

Trois fabrications ont été faites :

1. En juin 1960, avec un lot comprenant du poisson frais et des déchets de filetage et de maréyage.
2. En mars 1961, avec un lot homogène de maquereaux.
3. En mai 1961, avec des déchets de conserverie.

B. — CINÉTIQUE D'ABSORPTION D'OXYGÈNE

La méthode décrite dans « Manometric Techniques and Tissues Metabolism » a été utilisée dans les conditions suivantes :

Volume des fioles utilisées : 15 et 35 ml ;
 Poids de farine dans chaque fiole : 0,5 à 2 g ;
 Température du bain : 45° C ;
 Gaz utilisé : Oxygène purifié.

Étant donné que chaque expérience s'étendait sur plusieurs jours, l'appareil classique de Warburg a été complété par un vase de Mariotte, qui, maintenant constant le niveau du bain thermostatique, réduisait ainsi les variations du thermobaromètre.

Nous avons utilisé la liqueur de Brodie comme liquide manométrique ; aussi a-t-il été nécessaire — étant donné les volumes absorbés (1000 à 2000 μ l d'O₂) — de ramener plusieurs fois le manomètre au zéro. Dans les calculs, la pression partielle dans l'oxygène de l'air ainsi introduit a été négligée.

De la même façon, dans le calcul de la constante K des fioles, il n'a pas été tenu compte du terme V_f . Dans les conditions de l'expérience, ce terme est négligeable par rapport à $V_g = \frac{273}{T}$ étant donné la précision que nous avons demandée à cette méthode (précision de l'ordre de 1 p. 100).

C. — MÉTHODES CHIMIQUES

Extraction de la matière grasse de la farine.

10 g de farine sont extraits dans un homogénéiseur par 60 ml de chloroforme pendant 3 minutes, puis l'ensemble est filtré sur verre fritté. Cette opération est effectuée 3 fois. Les extraits chloroformiques sont réunis et évaporés dans un évaporateur rotatif sous vide. La température de la source chaude ne dépasse pas 40° C, celle de la source froide - 20° C. Les dernières traces de solvant sont chassées sous vide en faisant barbotter un léger courant d'azote.

Mesure de l'indice de peroxyde.

Méthode classique à froid décrite par WOLFF (1953).

Mesure de l'indice d'iode.

Méthode de KAUFMANN (1958).

Mesure de l'altération par le test à l'acide thiobarbiturique (Test T. B. A.).

Méthode adaptée par YU et SINNHUBER (1957) à la farine de poisson. Les densités optiques sont lues à 450 m μ et exprimées en densités optiques pondérées (DOP).

Dosage des antioxygènes

Pour le Santoquin, nous avons utilisé la méthode de BICKOFF et al. (1956) et pour le BIIT, celle de ANGLIN et al. (1956, 1957), modifiée par FRANÇOIS et PIIET (1960).

RÉSULTATS

I. — Afin de tester l'homogénéité entre les lots d'une même fabrication, on a procédé au dosage de la matière grasse et déterminé leur insaturation moyenne. Les résultats consignés dans les tableaux 1 et 2 montrent qu'il est difficile d'obtenir des lots parfaitement homogènes.

TABLEAU I

Teneur des farines en matière grasse en pourcentage de la matière sèche

	Témoïn	BHT		Santoquin
		0,1 %	0,05 %	
1 ^{re} Fabrication	25,4	23,6		23,3
2 ^e Fabrication	27,3	25,9		26,8
3 ^e Fabrication	14,0	10,0	15,0	13,3

TABLEAU 2
Indice d'iode

	Témoïn	B H T		Santoquin
		0,1 %	0,05 %	
1 ^e Fabrication	120	135		125
2 ^e Fabrication	122	122		122
3 ^e Fabrication	124	127	116	120

II. — *Indice de Peroxyde. Test T. B. A.* Des échantillons de chacun des lots de farine ont été placés dans une étuve éclairée, à 45°C ; on a mesuré l'indice de peroxyde de l'huile extraite de ces farines à des intervalles réguliers d'une journée. Parallèlement, on a effectué une détermination de l'indice T. B. A.

Les résultats obtenus montrent que les valeurs de l'indice de peroxyde n'évoluent pas dans le temps d'une manière régulière, mais qu'elles passent alternativement par des minima et des maxima.

Les valeurs du test T. B. A. obtenues sur les mêmes échantillons évoluent de façon désordonnée et ne rappellent pas l'allure de cinétique obtenue avec l'indice de peroxyde.

On ne peut donc établir aucune relation entre ces deux tests ni entre chacun d'entre eux et l'évolution de la farine dans le temps.

III — *Étude de l'absorption d'oxygène.* Les cinétiques d'absorption ont été étudiées au cours de différents essais réalisés soit sur des farines fraîches, soit sur des farines stockées pendant des temps variables à — 15°C ou à la température ambiante. Elles permettent de comparer l'absorption d'oxygène par des farines additionnées d'anti-oxygènes et l'absorption par des farines témoins.

D'une manière générale, quelles que soient les conditions de l'expérience (nature de la matière première, durée et mode de conservation des farines avant les essais), l'absorption d'oxygène est toujours supérieure dans le cas des farines témoins. En revanche, les farines traitées par le BHT ou le Santoquin ont un comportement sensiblement identique vis-à-vis de l'oxygène, dont l'absorption est fortement ralentie.

L'étude de chacune des figures nous donne des renseignements supplémentaires.

La figure 1 montre que l'absorption d'oxygène est proportionnelle à la quantité de farine mise en jeu, et que la réaction est d'ordre 0 par rapport à la quantité d'oxygène présent dans les conditions de l'expérience. Nous avons d'ailleurs vérifié ce fait d'une autre manière, en utilisant dans deux essais simultanés, une même quantité de farine mise dans des fioles de volume différent (15 et 35 ml). Dans les deux cas, l'absorption d'oxygène a été identique. Nous pouvons donc affirmer que, dans les conditions expérimentales choisies, les différences existant dans le comportement des différentes farines vis-à-vis de l'oxygène n'étaient dues qu'à l'action des anti-oxygènes.

La figure 2 représente la cinétique de l'absorption d'oxygène par les huiles extraites des farines. Elle confirme l'hypothèse que la fraction lipidique est en majeure

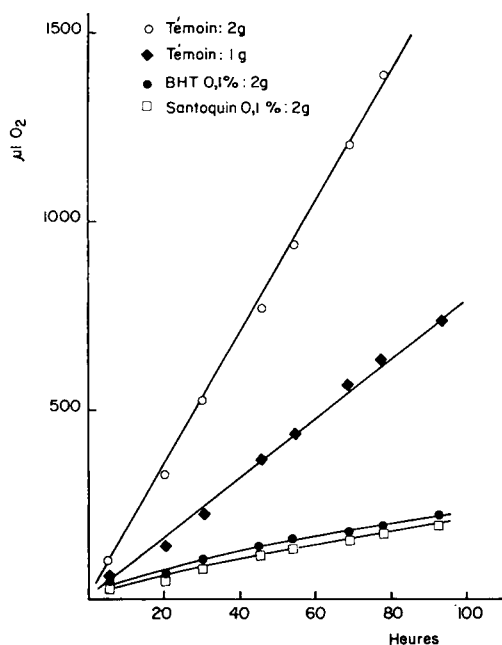


FIG. 1. — Absorption d'oxygène par les farines conservées à température ambiante
Fabrication : 21 juin 1960 — Essais effectués le 21 novembre 1960

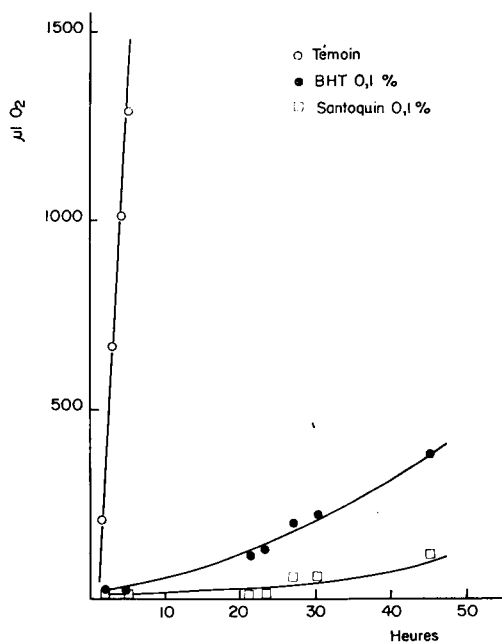


FIG. 2. — Absorption d'oxygène par l'huile extraite des farines conservées à -15°C
Fabrication : 21 juin 1960 — Essais effectués le 6 juillet 1960 sur 0,5 g d'huile

partie le substrat responsable de l'absorption d'oxygène et que les antioxygènes protègent l'huile dans la farine.

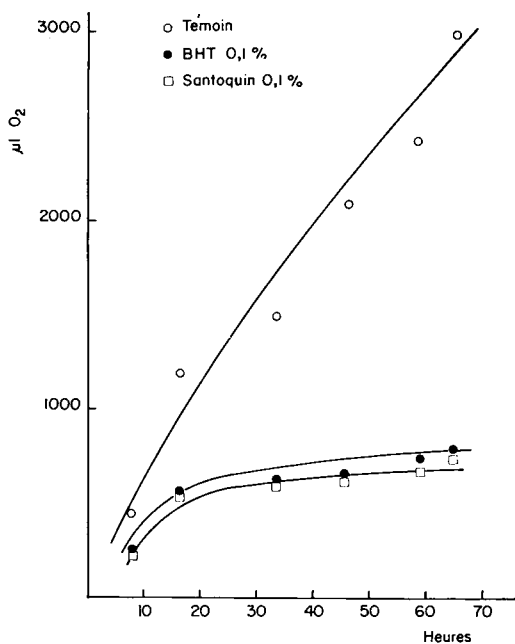


FIG. 3. — Absorption d'oxygène par les farines de maquereaux fraîches
Fabrication : 6 mars 1961 — Essais effectués le 8 mars 1961 sur 1 g de farine

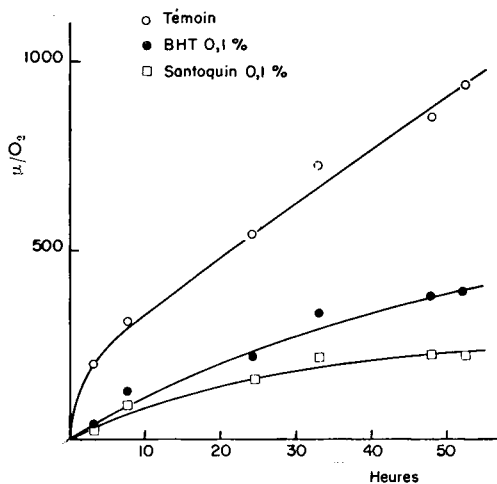


FIG. 4. — Absorption d'oxygène par les farines de maquereaux conservées à la température ambiante
Fabrication : mars 1961 — Essais effectués le 15 mai 1961 sur 1 g de farine

Il convient de remarquer toutefois que, dans cette expérience, les différences entre les échantillons sont plus importantes que dans le cas des essais sur farines, le Santoquin paraissant plus efficace que le BHT.

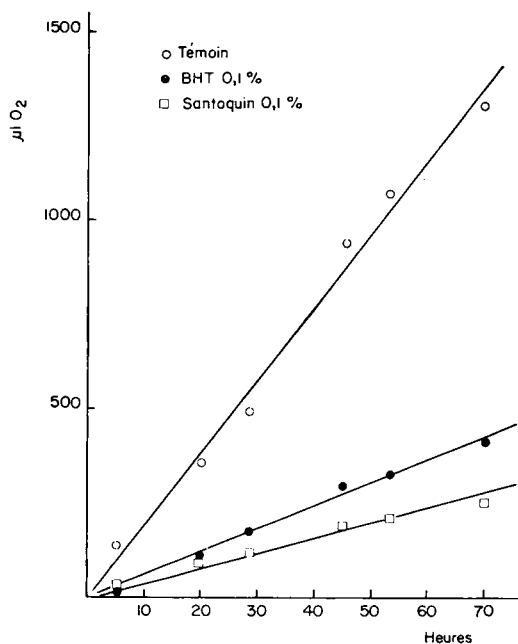


FIG. 5. — Absorption d'oxygène par les farines de maquereaux conservées 2 mois à -15°C
Fabrication : 6 mars 1961 — Essais effectués le 16 mai 1961 sur 1 g de farine

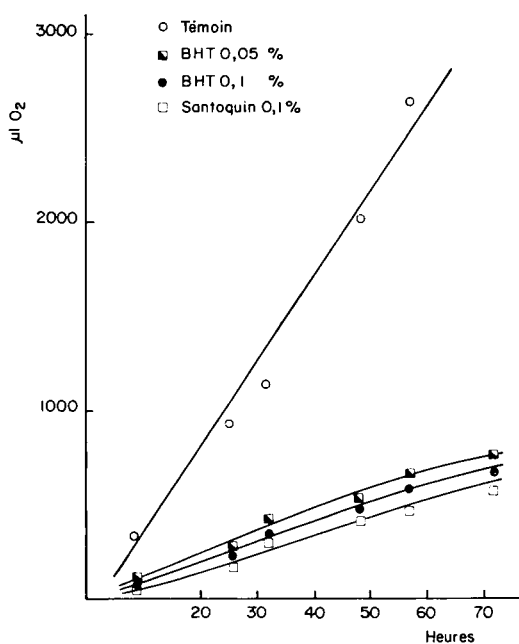


FIG. 6. — Absorption d'oxygène par des farines conservées 15 jours
à la température ambiante, puis 13 jours à 45°C
Fabrication : 24 mai 1961 — Essais effectués le 21 mai 1961 sur 2 g de farine

Les figures 3, 4 et 5 représentent les mesures effectuées sur une même farine, mais après des durées de stockage différentes. On observe un maximum d'absorption sur les farines fraîches, mais, quelle que soit la durée de stockage, la position relative des différentes courbes reste inchangée. Même après un an de stockage à température ambiante, les farines additionnées d'antioxygènes absorbent toujours moins d'oxygène que les farines témoins.

La figure 6 représente la cinétique d'absorption d'oxygène par des farines stockées pendant 15 jours à la température ambiante, puis pendant 13 jours à 45°C en présence d'air. On trouve des résultats identiques à ceux rapportés précédemment ; le BHT a eu encore une action protectrice à la dose de 0,05 p. 100.

DISCUSSION ET CONCLUSION

I. — L'un des buts initiaux de ces recherches était d'étudier différentes méthodes permettant de mesurer l'action des antioxygènes. Parmi ces méthodes figuraient la détermination de l'indice de peroxyde, le test T. B. A., la mesure des absorptions à 230 et 270 m μ , le dosage des dinitrophénylhydrazones par colorimétrie. Les deux premières méthodes n'ont pas donné de résultat satisfaisant ; les deux dernières se sont révélées également inapplicables aux farines de poisson, étant donné que l'absorption de fond due à la farine est très grande par rapport à l'absorption due aux produits d'oxydation apparus.

D'autres auteurs ont utilisé les tests les plus variés : taux d'extraction de la farine en fonction du temps, évolution de l'indice d'iode, couleur de la farine, absorption à 400 m μ , etc.

Nous avons observé que les variations de l'indice d'iode étaient du même ordre de grandeur, avant et après stockage, que les différences révélées entre lots ; en conséquence, nous n'avons pu utiliser ce test.

La même variabilité a été observée pour le taux d'extraction des matières grasses de la farine. Les différences qualitatives et quantitatives étaient importantes suivant le solvant, et la méthode d'extraction utilisés. Dans ces conditions, nous n'avons pas cru devoir utiliser ce test pour une comparaison entre farines.

Il apparaît donc que la méthode qui consiste à mesurer l'absorption de l'oxygène soit la seule valable dans le cas des farines de poisson. Elle ne donne évidemment aucun renseignement sur la nature des produits formés, mais elle permet de mesurer l'aptitude à l'oxydation de cet aliment ; les résultats obtenus confirment les possibilités de cette méthode.

II. — Nos essais ont été effectués avec des farines brutes, à haute teneur en matière grasse ; on peut supposer que, puisque les antioxygènes ont une action sur ces produits, ils sont évidemment efficaces sur les farines commercialisées dont la teneur en matières grasses est en général plus faible. Nous avons montré expérimentalement que les antioxygènes agissaient sur l'huile extraite de la même façon que sur la farine brute. Des essais réalisés sur farines dégraissées au solvant ont prouvé que, dans ce cas, l'absorption d'oxygène est nulle ; parfois même on observe un léger dégagement gazeux. On constate la même chose, mais à un degré moindre, dans le cas

d'une suspension de farine dans l'eau. Nous n'avons pas étudié en détail les mécanismes de cette réaction car, dans ces conditions, des phénomènes fermentaires se superposent à l'autoxydation de la partie lipidique, et on n'observe que la somme de ces deux actions sans connaître leur rôle respectif.

III. — Il est regrettable — c'est le cas surtout de la troisième fabrication — que nous n'ayons pu obtenir des lots parfaitement homogènes. Les résultats peuvent être toutefois considérés comme valables, puisque la richesse en matière grasse de la farine témoin se situe entre celle de la farine à 0,1 p. 100 de BHT (10 p. 100) et celle de la farine à 0,05 p. 100 de BHT (15 p. 100). La figure 6 montre que ces deux farines sont stabilisées par rapport à la farine témoin.

Bien que les conclusions soient identiques, que l'on procède aux mesures sur la farine, ou sur l'huile correspondante, quelques remarques particulières s'imposent.

La réaction d'autoxydation est de type autocatalytique, et la courbe représentative est à peu de choses près une exponentielle. On retrouve d'ailleurs cette forme de courbe dans le cas de l'huile extraite, mais pas dans celui des farines. Dans ce dernier cas, au contraire, il semble que l'absorption d'O₂ soit plus forte dans les premières heures qu'en cours de réaction où les quantités d'O₂ absorbées sont une fonction linéaire du temps.

Il faut aussi remarquer que l'addition d'un antioxygène à de l'huile a pour effet d'augmenter la période d'induction, la courbe représentative de la réaction étant décalée dans le temps. Dans le cas des farines, on n'observe pas ce phénomène. Les antioxygènes sont efficaces même après une longue période de stockage (un an) et l'absorption d'oxygène commence dès le début de l'essai dans les farines stabilisées.

Les réactions sont donc plus lentes dans le cas des farines, mais elles ne sont jamais nulles.

Le mécanisme de l'altération oxydative des farines apparaît donc comme un phénomène plus complexe que la seule autoxydation de l'huile.

IV. — Signalons de plus que la teneur en antioxygènes est exprimée en p. 100 du produit fini. C'est donc la teneur que devraient présenter les farines, mais en cours de cuisson et de stockage une partie de ces antioxygènes disparaît. Des dosages effectués sur le produit fini frais indiquent que cette perte est de l'ordre de 50 p. 100 pour le BHT et le Santoquin.

V. — Le Santoquin et le BHT à la dose de 0,1 p. 100 de la matière sèche introduits avant la cuisson permettent d'éviter l'altération et la dégradation oxydative des farines de poisson par abaissement de la quantité d'oxygène disponible par unité de temps.

Il serait souhaitable que dans des essais ultérieurs, on détermine la concentration minimum en antioxygène qui produise encore une stabilisation.

Cette concentration pourrait d'ailleurs être éventuellement diminuée, si l'addition d'antioxygènes se faisait après cuisson. Cette étude était prévue dans le programme de travail initial, mais des difficultés d'ordre matériel en ont empêché la réalisation.

Reçu pour publication en décembre 1962.

REMERCIEMENTS

Nous remercions M. PECHENART, Directeur de la S. F. I. M. à Concarneau, qui a mis son usine à notre disposition, ainsi que les Sociétés Shell St-Gobain et Monsanto, qui nous ont fourni les échantillons d'antioxygènes.

SUMMARY

MEASURING OXYGEN ABSORPTION IN FISH FLOURS. USE OF ANTIOXIDANTS FOR STABILIZATION

Of all the methods tried out in the laboratory for assessing fat degeneration by atmospheric oxygen, the most useful in the case of complex fat mixtures was that of determining oxygen absorption.

This technique was tried out on fish flours both untreated and treated with antioxidants and it confirmed that the antioxidants Santoquin (1,2-dihydro-6-ethoxy-2,2,4-trimethylquinoline) and BHT (butyl-hydroxy-toluene), used at 0.1 p. 100 slowed down the absorption of oxygen.

These auxiliary substances might, therefore, be used to remove such technological disadvantages as flour « carbonisation » during transport. In addition, this reduction in oxygen absorption would be accompanied by a lowering of the concentration of substances formed during the auto-oxidation of fatty products which might be responsible for certain nutritional disturbances.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANGLIN C., MAHON J. H., CHAPMAN R. A., 1956. Determination of antioxydants in edible fats. *J. Agr. Food Chem.*, **4**, 1018-1022.
- ANGLIN C., MAHON J. H., CHAPMAN R. A., 1957. Determination of antioxydants in edible fats. *J. Agr. Food Chem.*, **5**, 137.
- BICKOFF E. M., GUGGOLZ J., LIVINGSTON A. L., THOMPSON C. R., 1956. Determination of 6-ethoxy-1, 2-dihydro-2, 2, 4-trimethylquinoline in biological materials. *Analyt. Chem.*, **28**, 375-378.
- FRANÇOIS A. C., PIHET A., 1960. Influence de l'ingestion d'antioxygènes sur la composition de certains tissus et sur la stabilité des graisses de réserve du porc et du poulet. *Ann. Zootech.*, **9**, 195-208.
- KAUFMANN H. P., 1958. *Analyse der Fette und Fettprodukte*, vol. 1, 571-572, Springer Verlag, Berlin.
- LEA C. H., PARR L. J., 1958. Chemical and nutritional changes in stored herring meal. *Brit J. Nutr.*, **12**, 297-312.
- LEA C. H., PARR L. J., CARPENTER K. J., 1960. Chemical and nutritional changes in stored herring meal. *Brit. J. Nutr.*, **14**, 91-113.
- MARCH B. E., BIELY J., GOUDIE C., CLAGGETT F., TARR H. L. A., 1961. The effect of storage temperature and antioxydant treatment on the chemical and nutritional characteristics of herring meal. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **38**, 80-84.
- MARCH B. E., BIELY J., GLAGGETT F. E., TARR H. L. A., 1962. Nutritional and chemical changes in the lipid fraction of herring meals with and without antioxydant treatment. *Poultry Sci.*, **41**, 873-880.
- UMBREIT W. W., BURRIS R. H., STAUFFER J. F., 1951. *Manometric techniques and tissue metabolism*. 1 vol., 227 pp., Burgess Publishing Co, Minneapolis.
- WOLFF G., WOLFF J. P., 1953. *Méthodes d'analyse et de contrôle industriel des matières grasses*. 1 vol., 262 pp., Dunod, Paris.
- YU T. C., SINNIUBER R. O., 1957. 2-thiobarbituric acid method for the measurement of rancidity in fishery products. *Food Tech.*, **11**, 104-108