

UNIVERSITE DU QUEBEC

MEMOIRE

PRESENTE A

L'INSTITUT ARMAND-FRAPPIER

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAITRISE EN MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

PAR

MAXIMIN KOFFI DOGBEVI

EFFETS DES RAYONNEMENTS IONISANTS GAMMA
SUR LA QUALITE BIOCHIMIQUE ET MICROBIOLOGIQUE
DU PORC ET DES FEVES (*Vigna unguiculata*)

FEVRIER 1994

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	ii
LISTE DES TABLEAUX	v
LISTE DES FIGURES	vii
RESUME	ix
INTRODUCTION	1
REVUE DE LITTERATURE	6
1. INTRODUCTION	7
2. MICROBIOLOGIE	7
2.1 Microbiologie du porc	7
2.1.1 Modifications physiologiques après l'abattage	8
2.1.2 Contamination microbienne de la viande	13
2.1.3 Microorganismes du porc	14
2.1.4 Facteurs affectant la dégradation de la viande	17
2.1.5 Détérioration de la viande	22
2.2 Microbiologie des légumineuses	24
2.2.1 Sources de contamination	24
2.2.2 Microorganismes des légumineuses	26
2.2.3 Détérioration des graines	27
3. COMPOSITION BIOCHIMIQUE	33
3.1 Structure et composition protéique du porc	33
3.1.1 Composition du muscle	34
3.2 Composition protéique des fèves	38
3.3 Propriétés fonctionnelles des protéines	41
4. IRRADIATION DES ALIMENTS	44
4.1 Historique	44
4.2 Les différents types de radiation	45
4.3 Applications des rayonnements ionisants	49
4.4 Modes d'action des rayonnements ionisants	50
4.4.1 Production de paires d'électrons	50
4.4.2 Radiolyse de l'eau	51
4.5 Actions sur les microorganismes	54
4.5.1 Actions directes	55
4.5.2 Actions indirectes	61

4.5.3	Radiorésistance des microorganismes	61
4.6	Actions sur les protéines	63
5.	CONCLUSION	71
OBJECTIFS DE LA RECHERCHE		74
MATERIEL ET METHODES		75
1.	PORC ET FEVES	76
1.1	Provenance	76
1.2	Irradiation	76
2.	ANALYSES BIOCHIMIQUES	77
2.1	Préparation des échantillons	77
2.1.2	Précipitation des protéines pour dosage d'ammoniaque	77
2.1.3	Préparation des extraits de protéines	78
2.2	Dosage des extraits de protéines	81
2.3	Détermination du degré de désamidation des protéines	82
2.3.1	Dosage d'ammoniaque	82
2.3.2	Calcul du degré de désamidation	83
2.4	Détermination des SH disponibles	84
2.5	Détermination de la solubilité des protéines	85
2.6	Hydrophobicité des protéines	85
3.	ANALYSES MICROBIOLOGIQUES	86
3.1.	Dénombrement des bactéries mésophiles et psychotrophes	87
3.2	Dénombrement des Pseudomonas	88
3.3	Dénombrement des moisissures	88
3.4	Coloration de Gram	89
RESULTATS		90
1.	EFFETS DU DEBIT DE DOSES ET DE LA DOSE D'IRRADIATION SUR LES PROPRIETES BIOCHIMIQUES	91
1.1	Désamidation	91
1.2	Désulfuration	99
1.3	Solubilité	106
1.4	Hydrophobicité	113

2.	ANALYSES MICROBIOLOGIQUES	120
2.1	Dénombrement des mésophiles sur le porc irradié à 1 kGy	120
2.2	Dénombrement des mésophiles sur le porc irradié à 3 kGy	120
2.3	Dénombrement des psychotrophes sur le porc irradié à 1 kGy	127
2.4	Dénombrement des psychotrophes sur le porc irradié à 3 kGy	127
2.5	Dénombrement des Pseudomonas	133
2.6	Dénombrement des moisissures sur les fèves entreposées	133
	DISCUSSION	142
1.	EFFETS DE L'IRRADIATION SUR LA DESAMIDATION DES PROTEINES	143
2.	EFFETS DE L'IRRADIATION SUR LES GROUPEMENTS SULFHYDRILES	144
3.	EFFETS DE L'IRRADIATION SUR L'HYDROPHOBICITE DES PROTEINES	146
4.	EFFETS DE L'IRRADIATION SUR LA SOLUBILITE DES PROTEINES	146
5.	EFFETS DE L'IRRADIATION SUR LA FLORE DE MICROORGANISMES DU PORC ET DES FEVES	148
5.1	Dénombrement des mésophiles et des psychotrophes du porc	148
5.2	Effets de l'irradiation sur les Pseudomonas du porc	149
5.3	Effets de l'irradiation sur la flore des fèves entreposées	150
	CONCLUSION	153
	REMERCIEMENTS	156
	BIBLIOGRAPHIE	159

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1:	La concentration en certains constituants de faible poids moléculaire de la viande de boeuf avant ou après le rigor-mortis	12
Tableau 1.2:	Genres et espèces de moisissures régulièrement rencontrés sur les échantillons de fèves de soya désinfectées et non désinfectées	28
Tableau 1.3:	Effets de la température et de la contamination initiale sur la croissance des moisissures de céréales entreposées	30
Tableau 1.4:	Exigences en eau des moisissures de céréales .	32
Tableau 1.5:	Estimation en différentes protéines de quelques variétés de fèves	40
Tableau 1.6:	Radiorésistance de certaines moisissures de fèves	62
Tableau 1.7:	Radiorésistance de certaines bactéries végétatives de porc	63
Tableau 1.8:	Modifications des acides aminés du jaune d'oeuf après pasteurisation thermique, irradiation, traitement thermique (53.5°C, 60 min.) et utilisation de peroxydes	65
Tableau 3.1:	Effets de la dose et du débit de doses sur la désamidation (%) des protéines de porc irradié	93
Tableau 3.2:	Effets de la dose et du débit de doses sur la désamidation (%) des protéines de fèves légumineuses (<i>vigna unguiculata</i>) irradiées	96
Tableau 3.3:	Effets de la dose et du débit de doses sur les groupements sulfhydryles SH disponibles ($\mu\text{M/g}$) des protéines de porc irradié	100
Tableau 3.4:	Effets de la dose et du débit de doses sur les groupements sulfhydryles SH disponibles ($\mu\text{M/g}$) des protéines de fèves irradiées	103

Tableau 3.5:	Effets de la dose et du débit de doses sur la solubilité (%) des protéines de porc irradié	107
Tableau 3.6:	Effets de la dose et du débit de doses sur la solubilité (%) des protéines de fèves irradiées	110
Tableau 3.7:	Effets de la dose et du débit de doses sur l'hydrophobicité des protéines de porc irradié	114
Tableau 3.8:	Effets de la dose et du débit de doses sur l'hydrophobicité des protéines de fèves irradiées	117
Tableau 3.9:	Effets de l'irradiation sur l'évolution (Log UFC/g) des flores de Pseudomonas, de bactéries psychotrophes et mésophiles de porc entreposé à 4°C	122
Tableau 3.10:	Effets de différentes doses d'irradiation sur la flore de moisissures de fèves entreposées à 30°C et à 85% d'humidité relative	138

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1:	Les changements dans un muscle après l'abattage	9
Figure 1.2:	Organisation et composition d'un muscle squelettique	36
Figure 1.3:	Différents pouvoirs de pénétration des rayonnements Alpha, Bêta et Gamma	47
Figure 1.4:	Différents modes d'action des rayonnements ionisants	52
Figure 1.5:	Rupture de brins sur la molécule d'ADN	57
Figure 1.6:	Différentes courbes de survie de microorganismes irradiés: A) courbe exponentielle, B) courbe sigmoïde, C) courbe complexe	59
Figure 2.1	Préparation des extraits protéiques des échantillons de porc	79
Figure 3.1:	Effets de la dose et du débit de doses d'irradiation sur la désamidation des protéines de porc	94
Figure 3.2:	Effets de la dose et du débit de doses d'irradiation sur la désamidation des protéines de fèves légumineuses (<i>Vigna unguiculata</i>)	97
Figure 3.3:	Effets de la dose et du débit de doses d'irradiation sur les groupements sulfhydryles SH disponibles de protéines de porc	101
Figure 3.4:	Effets de la dose et du débit de doses d'irradiation sur les groupements sulfhydryles SH disponibles des protéines de fèves légumineuses (<i>Vigna unguiculata</i>)	104
Figure 3.5:	Effets de la dose et du débit de doses d'irradiation sur la solubilité des protéines de porc	108

Figure 3.6:	Effets de la dose et du débit de doses d'irradiation sur la solubilité de protéines de fèves légumineuses (<i>Vigna unguiculata</i>) . . .	111
Figure 3.7:	Effets de la dose et du débit de doses d'irradiation sur l'hydrophobicité de surface de protéines de porc	115
Figure 3.8:	Effets de la dose et du débit de doses d'irradiation sur l'hydrophobicité de protéines de fèves légumineuses (<i>Vigna unguiculata</i>)	118
Figure 3.9:	Comparaison de la croissance de mésophiles sur le porc traité à 1 kGy et le porc sans traitement d'irradiation	123
Figure 3.10:	Comparaison de la croissance de mésophiles sur le porc traité à 3 kGy et le porc sans traitement d'irradiation	125
Figure 3.11:	Comparaison de la croissance de psychotrophes sur le porc traité à 1 kGy et le porc sans traitement d'irradiation	129
Figure 3.12:	Comparaison de la croissance de psychotrophes sur le porc traité à 3 kGy et le porc sans traitement d'irradiation	131
Figure 3.13:	Comparaison de la croissance de <i>Pseudomonas</i> sur le porc traité à 1 kGy et le porc sans traitement d'irradiation	134
Figure 3.14:	Comparaison de la croissance de <i>Pseudomonas</i> sur le porc traité à 3 kGy et le porc sans traitement d'irradiation	136
Figure 3.15:	Comparaison de la croissance de moisissures sur les fèves légumineuses (<i>Vigna unguiculata</i>) irradiées à 1.5 et 3 kGy, et les fèves sans traitement d'irradiation	139

RESUME

Les effets des rayonnements ionisants sur la fonctionnalité des protéines et la qualité microbiologique du porc et des fèves ont été étudiés.

La viande de porc et les fèves ont été irradiées à des doses de 2, 4 et 8 kGy aux débits de doses de 4.4 et 38.1 kGy/h. Les échantillons non irradiés ont servi de contrôle. Une étude sur la fonctionnalité des protéines extraites a été effectuée à l'aide d'analyses de désamidation, désulfuration, d'hydrophobicité et de solubilité. Les résultats de ces analyses ont démontré une augmentation du degré de désamidation en fonction de la dose d'irradiation et qui est plus importante chez le porc par rapport aux fèves; de même les traitements à un débit de doses de 38.1 kGy/h ont provoqué une désamidation supérieure par rapport aux traitements à 4.4 kGy/h.

On note qu'à l'exception des groupements sulfhydryles SH disponibles les autres propriétés fonctionnelles sont peu affectées par l'irradiation quelque soit le type de protéines. Ces résultats pourraient s'expliquer par la faiblesse des doses et débits de doses utilisées et par la réversibilité de la structure des protéines et des réactions des protéines au cours des mesures. L'irradiation du porc et des fèves a montré toutefois qu'à faible débit de doses pour le porc et à fort débit de doses pour les fèves, on a une diminution de la quantité des SH disponibles.

Le dénombrement des microorganismes a été effectué sur des échantillons de porc irradié aux doses de 1, 3 kGy puis entreposé à 4°C, et sur des échantillons de fèves irradiées aux doses de 1.5 , 3 kGy puis entreposées à 30°C à 85% d'humidité relative; et les résultats furent comparés aux comptes microbiens obtenus des échantillons témoins. Les traitements à l'irradiation ont été procédés à 20 kGy/h. Les résultats de ces analyses ont démontré une réduction de la flore de bactéries psychotrophes, mésophiles et Pseudomonas chez le porc, et de la flore de moisissures chez les fèves; en plus d'une augmentation importante de leur durée d'entreposage en fonction de la dose utilisée.

INTRODUCTION

Les aliments à haute teneur en protéines, tels que la viande et les légumineuses qui ont entre 20% et 26% de protéines (Forrest, 1975; Tella, 1979) sont les plus importantes sources de protéines dans la consommation humaine, du fait de leurs approvisionnements des régimes alimentaires en acides aminés, vitamines et minéraux essentiels à la croissance normale et au maintien de la santé.

Au Canada, la consommation de porc a été de 64.6 livres par capita en 1989, et ce chiffre est bien supérieur aux 3.8 livres de veau ou aux 1.7 livres de mouton et d'agneau consommés par capita pour la même année (Revue Statistique: Conseil des Viandes du Canada, 1990).

Pour leur part, les légumineuses et plus particulièrement les fèves, représentent une source importante de protéines végétales dans l'alimentation (Chaves et al., 1952) des pays d'Afrique, d'Asie de même que chez les végétariens des pays occidentaux.

L'insuffisance de ces denrées riches en protéines constitue une menace très sérieuse pour le monde entier. Cette insuffisance, aussi bien qualitative que quantitative, est due à de nombreuses pertes liées aux modes de conservation inadéquats.

Plusieurs méthodes ont été développées afin de réduire les contaminations microbiennes pathogènes et les pertes alimentaires. Parmi les méthodes les plus utilisées on reconnaît, la pasteurisation, le séchage, la congélation, la mise en conserve et certains traitements chimiques. Une des plus récentes méthodes,

l'ionisation par des rayonnements Gamma, est de plus en plus utilisée pour la préservation des aliments (Taub et al., 1976; Richardson et al., 1960; Urakami et al., 1959; Urakami et al., 1961; Diehl, 1973).

En 1983, la Commission du Codex alimentaire qui regroupe 125 pays a approuvé l'irradiation des aliments jusqu'à une dose de 10 kGy. Cependant, l'utilisation commerciale de l'irradiation, aussi prometteuse soit-elle, est souvent limitée dans la plupart des pays par la législation même si les nombreuses recherches ont démontré la bonne valeur nutritive des aliments irradiés (Hafez et al., 1985).

Plusieurs recherches ont par ailleurs prouvé que la pasteurisation des aliments par l'irradiation coûterait moins cher que la pasteurisation par la chaleur, en plus d'éliminer complètement les pathogènes. Selon le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France, il est même préférable de consommer les aliments traités à l'irradiation plutôt que ceux traités par certains produits chimiques (Langley-Danysz, 1985).

L'irradiation assure l'inocuité et prolonge la durée de conservation des aliments. Ce traitement contribue ainsi à la protection de la santé des consommateurs (Josephson, 1983; Froning, 1978; Niemand et al., 1981; Goresline, 1982). Elle peut améliorer aussi la digestibilité des protéines de ces aliments suite à une hydrolyse partielle des protéines et augmente ainsi, leur niveau d'absorption au cours de la digestion (Vakil et al.,

1973).

Un traitement d'irradiation n'est pas sans causer certaines modifications positives ou négatives au niveau de l'aliment. Ces modifications affectent surtout les propriétés fonctionnelles des protéines qui sont des propriétés essentielles lorsque ce produit doit être transformé.

Il existe donc différentes techniques permettant d'estimer l'ampleur de ces changements: la formation des radicaux libres, suite à l'hydrolyse partielle des protéines, est source de changement des propriétés fonctionnelles qui peuvent se mesurer sous la forme d'une augmentation de l'indice d'hydrophobicité de surface ou de solubilité des protéines (Nakai et Powrie, 1981): une bonne flexibilité et une bonne solubilité des protéines améliorent leur digestibilité et augmentent remarquablement leurs applications potentielles (Kinsella, 1976).

L'augmentation des doses d'irradiation résulte en un accroissement des produits de radiolyses suite à des réactions de désamidation et de désulfuration des protéines (Taub et al., 1976; Merritt et al., 1978). Une relation linéaire entre la formation des éléments de radiolyses en fonction de la dose a été ainsi établie pour le porc et le boeuf irradié (Nawar et Balboni, 1970).

L'effet de l'irradiation, plus particulièrement sur les protéines, a fait l'objet de plusieurs études (Taub et al., 1976; Zabielski et al., 1984). Toutefois, les propriétés fonctionnelles des protéines de porc et de fèves irradiés tel que l'indice

d'hydrophobicité et de solubilité, suite à la désamidation et à la désulfuration, ont fait l'objet de très peu d'études du point de vue de la dose et du débit de doses. De même, très peu de littérature portent sur l'effet de l'irradiation sur la flore microbienne chez le porc et surtout chez les fèves (*Vigna unguiculata*).

Le but de cette recherche est d'examiner l'effet des rayonnements Gamma sur, les propriétés fonctionnelles des protéines et la qualité microbiologique du porc et des fèves, lorsque l'on fait varier la dose entre 0 et 10 kGy (1 Gray = 1 Joule transféré à 1 kg de matière).

REVUE DE LITTERATURE

1. INTRODUCTION

Tout comme la plupart des aliments, le porc et les fèves sont des denrées périssables au cours de leur entreposage qui ne dépasse pas quelques jours pour le porc et quelques mois pour les fèves. Ces produits, quelles que soient leurs conditions d'entreposage, même optimales, sont souvent les lieux de prolifération de microorganismes couramment rencontrés tel que les bactéries et les moisissures végétatives ou même pathogènes qui par leurs actions putréfiantes et toxigènes réduisent la durée de conservation des aliments.

Le but de cette revue de littérature est de résumer les principales flores souvent rencontrées chez le porc et les fèves, en plus des conditions qui favorisent leur prolifération. La composition protéique du porc et des fèves de même que l'effet de l'irradiation sur les protéines et la qualité microbiologique de ces aliments seront étudiés.

2. MICROBIOLOGIE

2.1 Microbiologie du porc

Selon Nottingham (1982) la qualité microbiologique de la viande de porc dépend des principaux facteurs suivants:

- l'état physiologique de l'animal à l'abattage
- le niveau de contamination à l'abattage et lors des opérations de manipulation

- la température, le temps et d'autres facteurs d'entreposage

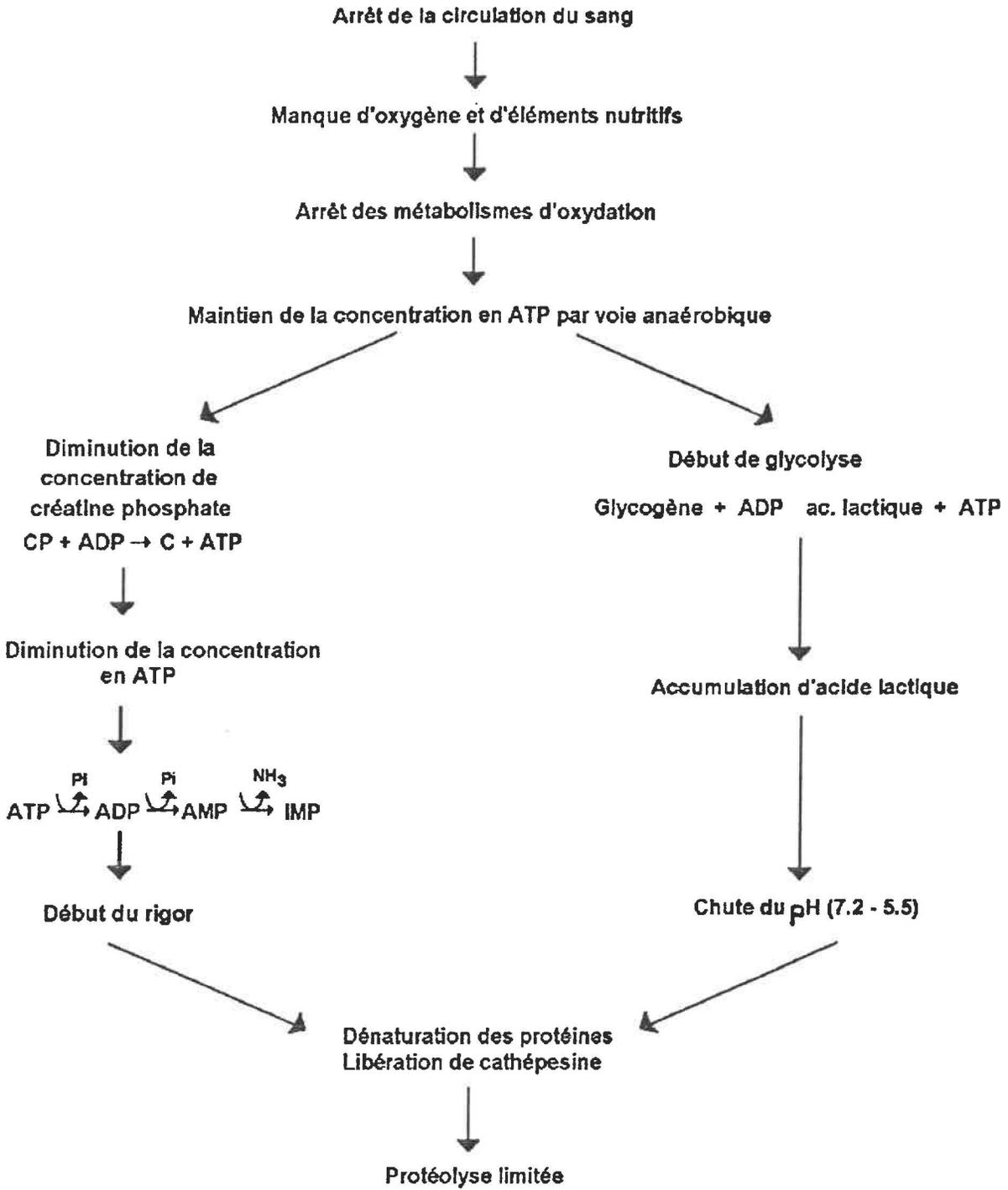
2.1.1 Modifications physiologiques après l'abattage

Les changements qui interviennent dans les muscles d'un animal après l'abattage sont nombreux: les muscles souvent élastiques et extensibles de l'animal vivant deviennent subitement inextensibles et rigides avec le développement du rigor mortis.

Les changements chimiques majeurs qui découlent du rigor mortis sont résumés à la Figure 1.1 (Lawrie, 1985). Les plus remarquables de ces changements sont la réduction des composés phosphatés (réserve énergétique) tels que l'ATP (adénosine triphosphate), le CP (créatine phosphate) et la dégradation du glycogène en acide lactique qui abaisse le PH.

La constitution biochimique du muscle est très peu affectée par le rigor mortis, et ce, malgré la variation que l'on peut remarquer dans la concentration des composés solubles de faibles poids moléculaire (Tableau 1.1), avec surtout la diminution marquée de la concentration du glycogène qui passe de 10 mg/g à 1 mg/g de viande pré-rigor à post-rigor (Gill, 1982). Ainsi, la viande peut fournir un environnement très favorable après l'abattage pour la prolifération des microorganismes, du fait qu'elle contient assez de nutriments, une activité d'eau (A_w) élevée et un pH favorable.

Figure 1.1: Les changements dans un muscle après l'abattage (Lawrie, 1985)



Un autre facteur qui contrôle la disponibilité de la viande à la prolifération des microorganismes est le niveau de stress de l'animal avant l'abattage. Les animaux excessivement stressés avant leur abattage présentent généralement une viande noircie, dure, déshydratée, résultant d'une réduction des réserves de glycogène. Ces viandes s'altèrent plus rapidement que les viandes normales, par leur manque en glycogène et par conséquent, produisent une quantité insuffisante d'acide lactique lors du rigor mortis pour baisser le pH en deçà de 5.5 (Schieper, 1976).

Par contre, certaines viandes peuvent être pâles (sans couleur), douces et très hydratées; c'est principalement le cas du porc dont les causes semblent être génétiques. Certaines races sont reconnues pour produire que de la viande de porc pâle.

Ceci résulterait d'une glycolyse excessive lors d'une augmentation de la température dans les muscles de l'animal qui entraîne une dénaturation des protéines dans les muscles. Ce dernier type de viande s'altère de la même façon qu'une viande normale, car elles ont un pH optimal et une composition chimique identique (Lawrie et al.; 1958).

Tableau 1.1: La concentration en certains constituants de faible poids moléculaire de la viande de boeuf avant ou après le rigor-mortis

SUBSTANCES	CONCENTRATION (mg/g)	
	PRE-RIGOR	POST-RIGOR
Créatine phosphate	3.0	-
Créatine	4.5	6.5
Adénosine triphosphate	3.0	-
Inosine monophosphate	0.2	3.0
Glycogène	10.0	1.0
Glucose	0.5	0.1
Glucose-6-phosphate	1.0	0.2
Acide lactique	1.0	9.0
Acide aminée	2.0	3.5
Carnosine, Ansérine	3.0	3.0
pH	7.2	5.5

(Gill, 1982)

2.1.2 Contamination microbienne de la viande

A l'exception des surfaces externes, telles que la peau, les voies gastro-intestinales et respiratoires, les tissus animaux sont exempts de microorganismes. Les globules blancs et les anticorps développés par les animaux dans leur organisme au cours de leur vie sont très efficaces dans le contrôle des agents infectieux. Cependant, ce mécanisme de défense interne disparaît immédiatement avec l'écoulement du sang, après l'abattage des animaux: d'où la nécessité de chercher des mesures pour minimiser les contaminations et de réduire la croissance et l'activité des microorganismes déjà présents sur la viande.

La contamination de la viande est considérée comme une inévitable conséquence des techniques courantes et des conditions d'abattage des animaux, ce qui entraîne une altération ou un risque pour la santé du consommateur. Elle a lieu essentiellement à partir de l'abattage de l'animal, en passant par la transformation, la distribution jusqu'à la consommation, à moins que des mesures soient prises pour la minimiser.

La première contamination de la viande résulte souvent de l'introduction de microorganismes dans le système vasculaire au moment où l'animal est égorgé ou tué à l'aide d'un matériel non stérile ou mal stérilisé. Du fait que le sang continue de circuler dans l'animal quelques instants juste après son abattage,

les microorganismes introduits dans son organisme se répartissent dans tout le corps de l'animal.

Les autres sources majeures de contamination potentielle sont: les viscères, les équipements utilisés, les vêtements et les mains du personnel, les eaux utilisées pour laver les carcasses de viande et l'air ambiant du milieu des opérations.

2.1.3 Microorganismes du porc

Les microorganismes souvent rencontrés dans les viandes sont les bactéries, les levures-moisissures ou les virus.

Les moisissures sont des organismes pluricellulaires caractérisés par une morphologie mycélienne. Elles peuvent être multicolores et sont facilement identifiées sous forme de taches feutrées sur les aliments. Les moisissures produisent des spores qui, en se répandant dans l'air, assurent leur prolifération lorsque les conditions sont réunies. Les toxines qu'elles produisent sont très dangereuses pour la santé des consommateurs.

Les levures sont des unicellulaires qui se distinguent des bactéries par leur grande taille et leur morphologie. Elles peuvent se répandre dans l'air et contaminer les aliments.

Les bactéries sont aussi des organismes unicellulaires, de forme variant des bâtonnets aux sphères ovoïdes qui peuvent être isolées ou rassemblées en agrégats. Certaines bactéries peuvent posséder des flagelles et sont alors mobiles et d'autres

pigmentées et sont responsables de la décoloration des surfaces des viandes.

La plupart des bactéries provenant du sol, l'eau et de la végétation, sont des psychotrophes capables de croître à des basses températures et de dégrader la viande (Newton et al., 1978; Paterson et Gibbs, 1978), ensuite, viennent les mésophiles et les thermophiles.

Les bactéries directement associées à la dégradation et à l'infection de la viande de porc sont les suivantes: *Pseudomonas* spp, *Aeromonas hydrophyla*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* et *Yersinia enterocolitica* (Kotula, 1987).

Yersinia enterocolitica a été isolée de la gorge et de la langue du porc (Christenson, 1980; Hanna et al., 1980), puis retrouvée dans le porc en détail, vendu à l'étalage (Schiemann, 1982). Selon Stern (1982), la consommation du porc est l'origine principale des infections de gastro-entérites causées par *Yersinia enterocolitica*.

Campylobacter jejuni est souvent rencontrée aussi bien dans les boyaux chez le porc vivant et en bonne santé que sur les viandes de porc. Stern (1981) a isolé *Campylobacter jejuni* à la fois des matières fécales et des carcasses de porc non lavées. Malgré tout, selon les études épidémiologiques, le porc, porteur de *Campylobacter* est très peu impliqué dans les infections

de *Campylobacter* chez les humains.

Les contaminations de *Salmonella* chez le porc dépendent des conditions d'élevage des animaux, du degré de stress pendant le transport et des conditions d'hygiène lors de l'abattage (Mackey, 1989). Selon Williams et Spencer (1973), ces contaminations du porc à l'abattoir sont plus élevées mais peuvent être réduites lorsque l'on évite de stresser les animaux pendant leur transport avant l'abattage.

Aeromonas hydrophyla se retrouve souvent chez le porc emballé sous vide (Enfors et al., 1979; Myers et al., 1982; Blickstad et Molin, 1983). Cependant, l'incidence de cet organisme sur la santé publique est peu connue.

Selon Smart et al. (1979), *Clostridium perfringens* se retrouve mais en faible quantité dans les boyaux des porcs vivants comme sur sa carcasse: mais aucune des souches isolées ne produisent d'entérotoxines. Par contre, *Clostridium botulinum* est plus présent (Roberts et Smart, 1976).

Selon un certain nombre de chercheurs (Ayres, 1960; Brown et Weidman, 1958; Jay, 1967), le genre *Pseudomonas* constitue le groupe prédominant dans la dégradation de la viande grâce à leur importante activité protéolytique.

Par ailleurs, on note aussi la présence de certains virus dans la viande tels que le virus de la fièvre du porc de même le protozoaire *Toxoplasma gondii* responsable de la Toxoplasmose.

2.1.4 Facteurs affectant la dégradation de la viande

Seule la fraction de la microflore initiale d'une viande contaminée qui dispose des conditions physiologiques compatibles avec le milieu de la viande prolifère et devient dominant pour causer leur dégradation (Mossel, 1971). Les facteurs qui affectent la prolifération des microorganismes dans la viande se divisent en deux groupes principaux:

- les facteurs extrinsèques: température, humidité relative, présence d'oxygène, modifications de la flore initiale (chauffage, irradiation, addition d'agents chimiques de conservation).

- les facteurs intrinsèques: l'activité en eau (A_w), pH, potentiel rédox, valeur nutritive.

-Facteurs extrinsèques:

Température

Chaque microorganisme dispose d'une température optimale, minimale et maximale de croissance, d'où l'importance de la température d'entreposage de la viande qui influence le type, le rythme et l'importance de l'activité microbienne. Une légère variation de quelques degrés seulement de la température peut alors favoriser la croissance d'un type de microorganisme et peut résulter en une dégradation accélérée de la viande. D'où l'importance de la température comme moyen de contrôle de

l'activité microbienne. La température optimale pour la croissance de la plupart des microorganismes se situe entre 15°C et 40°C. Ceci n'empêche pas certains microorganismes de bien croître à des températures de réfrigération (4°C) ou au-delà de 100°C . Les microorganismes dont la température optimale est inférieure à 20°C, sont classés psychotrophes; ceux dont la température optimale est supérieure à 45°C sont classés thermophiles; et ceux dont l'optimum est situé entre les psychotrophes et les thermophiles sont classés mésophiles. Cependant, rappelons que les moisissures sont plus psychotrophes que les levures et les bactéries respectivement. Les températures inférieures à 5°C retardent généralement la croissance de la majorité des microorganismes associés à la dégradation, de même elles empêchent la prolifération de la presque totalité des pathogènes. Par conséquent, la température de 5°C représente un seuil critique pour la conservation de la viande et ne peut être dépassée sans affecter la qualité de la viande.

Humidité

L'humidité relative nécessaire pour une conservation optimale de la viande varie en fonction de la température. En règle générale, plus la température d'entreposage est élevée, plus l'humidité relative doit être basse et vice versa. Pour un entreposage entre -1°C et 3°C, l'humidité relative doit se

situer entre 88% et 92%. Les fortes humidités relatives entraînent une condensation à la surface de la viande, ce qui est très favorable à la prolifération des microorganismes, du fait de la conductivité des surfaces et accélère la dégradation de la viande. Par contre, une déshydratation inhibe la croissance et noircit la viande. De tous les microorganismes, les bactéries exigent les humidités relatives les plus élevées pouvant même dépasser 92% alors que les moisissures en exigent peu (85% à 90%).

Oxygène

La disponibilité en oxygène ou non est un facteur très important car c'est elle qui détermine le type d'activité des différents types de microorganismes. Les microorganismes qui exigent un fort besoin en oxygène sont des aérobies alors que ceux qui peuvent croître en absence d'oxygène, sont des anaérobies. Il existe aussi des microorganismes facultatifs ou des microaérophiles qui croissent en présence ou non d'oxygène ou de peu d'oxygène.

Modification de la flore initiale

L'utilisation des traitements comme l'irradiation et certains agents chimiques de conservations peuvent contrôler la présence de la flore sur la viande, d'où leur intérêt dans la conservation des aliments.

-Facteurs intrinsèques:Eau

La présence d'eau est un élément très important pour les microorganismes. Cependant, une réduction de la disponibilité de l'eau (A_w) peut être ou peut devenir un mode de conservation car ce n'est pas la quantité totale d'eau présente dans la viande qui contrôle la croissance microorganismes mais plutôt la quantité d'eau disponible . L'exigence des microorganismes en eau, peut s'exprimer sous forme d'activité en eau (A_w) dont voici l'équation:

$$A_w = P/P_0 \quad (P: \text{pression partielle de la vapeur de solution; } P_0: \text{pression partielle de la vapeur d'eau pure)}$$

L' A_w de la viande fraîche étant supérieure à 0.99 , proche de l'optimum de croissance des microorganismes, la viande fraîche par conséquent, est un milieu très favorable pour la prolifération des bactéries. La plupart des bactéries de dégradation ne peuvent croître en-deçà d'un A_w de 1.91 , alors que les moisissures et les levures peuvent supporter et croître à un A_w inférieur à 0.8.

pH

Les microorganismes disposent d'un intervalle de pH pour une croissance optimale et généralement, cet intervalle varie autour

de la zone de neutralité, i.e un pH = 7 . Les moisissures ont une plus grande tolérance au pH qui peut varier entre 2 et 8. Les levures, quant à elles, croissent le mieux à un pH variant entre 4 et 4.5 ; et les bactéries au voisinage immédiat de la zone de neutralité. Les viandes ayant un pH entre 5.4 et 5.6 sont plutôt favorables pour la croissance des moisissures et bactéries acidophiles, mais à partir de pH inférieur à 5.2, le milieu devient trop acide pour la croissance des bactéries.

Potentiel rédox

Le potentiel rédox de la viande est considéré comme un indicateur de son pouvoir d'oxydation ou de réduction. Afin d'assurer leur croissance, certains microorganismes ont besoin d'un milieu réducteur ou oxydant. Les microorganismes aérobies préfèrent des milieux à potentiel rédox élevé, i.e oxydant, et les microorganismes anaérobies, un milieu à faible potentiel rédox, i.e réducteur.

Eléments nutritifs

En plus, des besoins en oxygène et en eau, la plupart des microorganismes ont un besoin en éléments nutritifs tels que l'azote, l'énergie, les minéraux et des vitamines pour assurer leur croissance. Ils tirent leurs sources d'azote, des acides aminées et d'autres composés non protéiques, puis leur énergie des carbohydrates. Mais, du fait que les viandes sont moins riches

en carbohydrates, certains microorganismes protéolytiques peuvent chercher leur énergie à partir des protéines ou des lipides.

2.1.5 Détérioration de la viande

La notion de viande avariée est une notion très controversée du fait qu'une viande peut être consommable pour les uns mais non consommable pour les autres. Habituellement, une viande se dit avariée lorsque sa qualité devient incompatible à une consommation humaine. Cependant, d'autant qu'une viande déclarée non consommable par les services d'inspection d'hygiène est souvent ordinairement encore considérée de bonne qualité, une telle situation nécessite d'être clarifiée.

Dans son sens habituel, un aliment ou une viande est non comestible lorsque cet aliment est putréfié par les microorganismes et dans un tel cas, la conclusion que l'aliment est avarié est évidente; mais une viande avariée n'est pas absolument une viande décomposée. Cette notion devient d'autant plus pertinente, car un avariement n'est pas nécessairement lié à une action microbienne, mais peu aussi résulter de l'action des insectes, des enzymes intrinsèques à la viande, de l'oxydation des gras contenu dans la viande. Cependant, de toutes ces voies de dégradation, celle la plus souvent rencontrée résulte de l'action microbienne des bactéries ou des moisissures.

Les flores microbiennes impliquées dans la dégradation de la

viande sont toujours celles dont les critères de croissance sont réunis dans les conditions où les viandes sont tenues. Une viande entreposée en condition aérobie, à température variant jusqu'à 20°C, présente souvent une flore à prédominance de *Pseudomonas* du fait qu'ils y trouvent un milieu favorable à leur croissance, par rapport aux autres genres de bactéries (Gill et Newton, 1977). Par contre, à température plus élevée, les *Pseudomonas* sont remplacés graduellement par d'autres souches bactériennes (Gill, 1982; McMeekin, 1982).

La prolifération de *Pseudomonas* est conditionnée par la concentration en glucose disponible de la viande. Et la dégradation de la viande à proprement dit ne débute que lorsque les *Pseudomonas* n'ont plus de glucose suffisamment disponible et alors, s'attaquent à dégrader les acides aminés des protéines (Gill, 1976), dont les produits de métabolisme sont responsables des mauvaises odeurs et des mauvaises saveurs (Mossel et Ingram, 1955). Du moment où la population des *Pseudomonas* arrive à dépasser 10^6 UFC/cm², la viande commence à dégager une odeur de putréfaction; on voit même une mince formation membranaire apparaître dans certains cas, lorsque le nombre de bactéries arrive à 10^8 UFC/cm² (Ingram et Dainty, 1971). Cependant, cette formation est moins remarquée chez le porc. La viande de porc est habituellement plus riche en acides gras que les autres viandes tel que le boeuf et l'agneau (45% comparé à 20%-28%) (Jay, 1978). Elle contient de même, plus d'acides gras insaturés que ces derniers

(Keskinel et al., 1964); par conséquent, cette viande est plus prédisposée au développement d'une rancidité en présence d'oxygène (Grant, 1990).

2.2 Microbiologie des légumineuses

2.2.1 Sources de contamination

Les fèves, comme toutes les légumineuses à leur état naturel, sont altérables par les microorganismes à un rythme qui dépend souvent de plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques. Plusieurs méthodes, telles que le séchage, la fermentation, la congélation, la réfrigération, la mise en conserve et l'irradiation sont souvent utilisées pour la conservation de ces aliments.

La plupart des légumineuses déshydratées sont stables et rarement citées à l'origine des maladies alimentaires; à l'exception des fèves de soya et de plusieurs autres types de produits qui sont plus rares dans le commerce. Ces raisons expliquent bien la rareté d'informations sur la microbiologie des produits agricoles secs. Les principales sources de contamination des fèves légumineuses sont:

- les champs, au cours des récoltes
- les lieux d'entreposage
- pendant le transport

La plupart des graines arrivent des pays du sud à climats chauds (tropicaux et équatoriaux) particulièrement favorables au

développement microbien. A ceux-ci s'ajoutent, les conditions de récolte et d'entreposage douteux sur le plan hygiénique, d'où résultent des produits fortement contaminés par les bactéries, levures et moisissures. Les moisissures constituent la première source de flore microbienne souvent retrouvée sur les fèves. Elles contaminent souvent les fèves en surface et peuvent même les envahir totalement (Mislivec et al., 1975; Mislivec et Bruce, 1977). Les espèces prédominantes de cette flore de moisissures que l'on retrouve sur les fèves sont des éléments du genre *Aspergillus*. Cependant, la décomposition des produits alimentaires secs est assez rare, du fait que leur A_w est assez bas.

Les moisissures des champs qui survivent après séchage des fèves ou qui recontaminent les produits séchés, se développent difficilement sur les graines à A_w faible. Cependant, au cours de l'entreposage, ces moisissures peuvent rester vivantes mais inactives pour plusieurs mois. Leur survie peut se prolonger à basse température et à faible humidité (Christensen, 1978; Andriyevs'kyi et Bondarchuk, 1976). Mais ces moisissures, d'origine champêtre, peuvent aussi disparaître (Lutey et Christensen, 1963), de sorte qu'après un long entreposage et le transport dans le commerce international, on retrouve une réduction marquée de leur flore qui laisse graduellement la place à d'autres espèces microbiennes résistant au faible A_w . Ces changements minimisent les risques d'introduction d'organismes pathogènes à

travers les frontières internationales (Wallace et Sinha, 1975). Lors de l'entreposage du riz par exemple, les moisissures d'origine champêtre disparaissent et sont remplacées par des souches résistantes à bas A_w : et dans un ordre décroissant, on peut retrouver respectivement: *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* et *Streptomyces diastaticus* (Iizuka, 1957-1958).

2.2.2 Microorganismes des légumineuses

Le nombre et le type des microorganismes que l'on retrouve sur les légumineuses sont fonction de leur capacité d'adaptation au type de sol, de fertilisation et des conditions de temps pendant ou après les récoltes: l'humidité et la chaleur étant les principaux facteurs à l'origine de la prolifération microbienne. La contamination que l'on retrouve chez les légumineuses et surtout les fèves, est une contamination de surface et dans certains cas, on peut compter jusqu'à une centaine d'espèces (Semieniuk, 1954). De cette flore, très peu atteignent l'intérieur des fèves.

La flore microbienne des légumineuses est généralement composée d'une part de microorganismes saprophytes impliqués dans les altérations et d'autre part de pathogènes. Le premier groupe comporte principalement des spores de bactéries, des bactéries (Sheneman, 1973), certains coliformes et des *Clostridium* (Vaughn, 1970; Clark et al., 1966).

La flore courante des fèves séchées est principalement composée des moisissures (Mislivec et al., 1975; Mislivec et

Bruce, 1977) : *Aspergillus glaucus*, *A. candidus*, *A. flavus*,
A. ochraceus, *A. restricticus*, *Penicillium cyclopium*, *Alternaria sp.*
et *Cladosporium sp.* .

La flore pathogène souvent retrouvée sur les fèves sèches est composée de moisissures toxigènes tel que: *Aspergillus melleus*, *Penicillium expansum* et *Penicillium urticae* (Hesseltine,1976). Selon Bean et al. (1972), l'examen d' échantillons de fèves de soya a révélé que 50% de ces fèves portaient une flore de moisissures abondante contenant des aflatoxines cancérigènes (Tableau 1.2)

2.2.3 Détérioration des graines

Les principaux facteurs impliqués dans la détérioration des graines de légumineuses sont: l'activité de l'eau (A_w), la température et l'oxygène, la chaleur, les insectes puis, l'invasion par les moisissures.

Activité en eau (A_w) et invasion par les moisissures

Les moisissures impliquées dans la dégradation des graines, sont d'abord celles qui résistent et qui sont capables de croître à des basses activités d'eau. Le Tableau 1.3 nous montre les différentes moisissures des graines sèches, avec le minimum d'activité d'eau qu'elles peuvent supporter, lorsqu'elles sont incubées à leur température optimale de croissance.

Tableau 1.2: Genres et espèces de moisissures régulièrement rencontrés sur les échantillons de fèves de soya désinfectées et non désinfectées

ESPECES	ECHANTILLONS	
	END*	ED**
<i>Alternaria spp.</i>	208	202
<i>Aspergillus candidus</i>	280	104
<i>A. flavus</i>	316	142
<i>A. glaucus</i>	369	285
<i>A. nidulans</i>	201	36
<i>A. niger</i>	188	43
<i>A. ochraceus</i>	267	70
<i>A. restrictus</i>	79	89
<i>A. sydowi</i>	99	23
<i>A. tamaraii</i>	91	12
<i>A. versicolor</i>	320	49
<i>A. wentii</i>	136	19
<i>Cladosporium spp.</i>	274	226
<i>Fusarium spp.</i>	124	73
<i>Penicillium chrysogenum</i>	194	45
<i>P. citrinum</i>	97	22
<i>P. cyclopium</i>	335	163
<i>P. islandicum</i>	94	5
<i>P. oxalicum</i>	103	31
<i>P. viridicatum</i>	279	69

(Mislivec, 1977)

* Echantillons non désinfectés

** Echantillons désinfectés

Température

La croissance des moisissures dépend en grande partie de la température, de l'oxygène disponible et de l'activité d'eau. Lorsque deux de ces trois facteurs sont optimum, la croissance des organismes est limitée par le troisième facteur; de même, si un seul facteur reste optimal, les deux autres deviennent limitant (Semieniuk, 1954; Mislivec et Tuite, 1970). Le Tableau 1.3 nous présente les résultats d'une expérience en laboratoires et sur le terrain de la croissance de moisissures en fonction de l'activité d'eau et de la température. Une conservation des graines en-deçà de 5°C permet leur conservation plus longtemps, même lorsque leur activité en eau est trop élevée pour une bonne conservation à température ambiante (Hodges et al., 1971). Ainsi, les fèves de soya gardées à une humidité relative de 14% à 14.3% ne supporteront aucune croissance de moisissures, même pour plusieurs années à 5°C - 6°C, alors que gardées à 30°C, on voit rapidement apparaître sur ces fèves, des moisissures au bout de quelques semaines seulement. Si le niveau d'humidité relative et la température sont justes à leur valeur limite, leur effet est tout simplement retardé. C'est ainsi que, les fèves de soya, à humidité relative de 13%, peuvent être gardées à 5°C pendant 150 à 170 jours sans aucun dommage; cependant à partir de 450 à 500 jours, elles peuvent être envahies de moisissures (Christensen, 1967).

Tableau 1.3: Effets de la température et de la contamination initiale sur la croissance des moisissures de céréales entreposées

GRAINES	ABSENCE DE CROISSANCE DE MOISSURES			CROISSANCE DE MOISSURES		
	% D'EAU	°C	JOURS	% D'EAU	°C	JOURS
Blé	15-15.5	5,10	365	16-16.5	5,10	365
	16-18	-5	570			
Maïs	<17.5	35	32	16.5	25-35	32
	-	-	-	15.5	25	-
	14.2;15.5	10	365	14.2;15.5	25	365
	18.5	5	120	18.5	25-30	7
Fèves	13-14	5	150-170	13	5	480-500
	14-14.3	5-6	Années	13-14	25	<480
Riz				14-14.3	30	Semaines
	15	4-7	-	15	10-42	-
	13.5	20-25	120	14.5	20-25	120
	14	5-15	465	16	25-31	465
	14	25	150	14.5	30	60
Tournesol	10.5	23.9-35	84	14.7	35	84
Viande	9.0-15.7	<5	-	>11	21	-
	6	-	-	>7	-	-

(ICMSF, 1980)

De même, la croissance des moisissures peut être fonction de l'activité en eau (A_w) lorsqu'elle est juste au-dessus de la valeur minimale (Christensen et Gordon, 1948). Pourtant, du fait que chaque moisissure dispose d'un intervalle d' A_w pour sa croissance, les souches vont beaucoup varier d'un substrat à un autre (Tableau 1.4). Tout ceci explique que pour un entreposage de court terme, une A_w élevée et une température élevée peuvent être acceptables.

Oxygène

En ce qui concerne le rôle de l'oxygène, des expériences ont montré que la réduction de la quantité d'oxygène dans le milieu ambiant d'entreposage inhibe peu la croissance des moisissures sur les graines à comparer à l' A_w et à la température car, bien que la plupart des moisissures soient aérobies, un bon nombre peut aussi croître facilement en milieu anaérobie (ICMSF, 1980).

Chaleur

Une A_w de 10% à 12% considérée optimale pour la conservation d'un vrac de graines à température ambiante et constante, ne l'est plus sous l'influence d'un gradient de température. Ceci est d'autant plus vrai dans les zones géographiques à forte variation de température, au cours des différentes saisons. Une différence de température à l'intérieur d'un entrepôt de vrac de 0.5°C à 0.1°C

Tableau 1.4: Exigences en eau des moisissures de céréales

MICROORGANISMES	MINIMUM A_w	% MINIMUM D'EAU POUR LA CROISSANCE					
		MAÏS, BLE	RIZ		FEVES SOYA	TOURNESOL	
			NATURE	POLI		GRAIN	PAIN
<i>Aspergillus halophilicus</i> , <i>A. restrictus</i>	0.65-0.70	12.5-13.5	12.5	14	12-12.5	-	-
<i>A. glaucus</i> ,	0.70-0.75	14.5-15.0	13.5	15	14-14.5	9.5	6
<i>A. candidus</i> , <i>cheyalieri</i>	0.75-0.80	15.0-15.5	14.5	15.5	14.5-15	10.5	7
<i>A. ochraceus</i> , <i>versicolor</i> <i>A. nidulans</i>							
<i>A. flavus</i> , <i>Penicillium</i> <i>citreoviride</i> , <i>P. citrinum</i> <i>A. versicolor</i>	0.80-0.85	18.0-18.5	15	16.5	17.0-17.5	11.5	8
<i>A. oryzae</i> , <i>A. fumigatus</i> <i>A. niger</i> , <i>P. notatum</i> <i>P. islandicum</i> , <i>P. urticae</i>	0.85-0.90	19.0-20.0	16.5	17.5	18.5-19.5	13.5	9
Levures, bactéries	0.95-1.00	22-24	18	-	20-22	-	-

(Christensen, 1974)

peut engendrer des problèmes dûs à l'évaporation d'humidité à partir des graines du compartiment plus chaud (température élevée) et qui va se condenser dans le compartiment froid du cal (basse température), et par accumulation, favorise la croissance des moisissures (Christensen et Kaufman, 1977a; Wallace et al., 1976).

Les insectes

La présence d'insectes pour la plupart dans les graines en vrac viennent aggraver les problèmes de ces derniers déjà existants, au niveau des transferts de chaleur (Harein, 1969; Majunder, 1974). En effet, les gaz de respiration des insectes, viennent s'ajouter aux transferts de chaleur et de production d'humidité. La fumigation pour le contrôle des insectes aide énormément à réduire l'invasion des moisissures, cependant elle n'a pas d'effet durable sur leur croissance de même que leur production de mycotoxines (I.C.M.S.F., 1980)

3. COMPOSITION BIOCHIMIQUE

3.1 Structure et composition protéique du porc

On désigne par le terme de viande, "tout muscle ayant subi des changements chimiques et biochimiques post-mortem". Les muscles squelettiques représentent la principale source des tissus de muscles dans la viande. Ainsi, la viande n'est pas synonyme de muscles mais elle est fait de muscles. Tout comme le

corps d'un animal, la viande est composée d'eau (75%), de protéines (16% à 22%), de lipides (1.5% à 13%), de carbohydrates et d'éléments organiques (1.0%) (Forrest et al.,1975).

3.1.1 Composition du muscle

Les protéines de la viande ne représentent qu'une infime partie de celle-ci (20%) et sont localisées dans les tissus musculaires. Leur importance vient du fait qu'elles ont une haute qualité nutritionnelle et des caractéristiques fonctionnelles supérieures. La grande variation fréquemment observée dans les propriétés du muscle provient d'interactions complexes de facteurs intrinsèques (espèces, élevage, sexe, âge, localisation anatomique des muscles, nourriture, variabilité inter-animale) et extrinsèques (conditions pré et post abattage, conditions d'entreposage post-mortem). Traditionnellement, les protéines qui se trouvent dans les muscles sont classées selon leur distribution, leur organisation, leur solubilité et leur rôle dans le muscle vivant.

Les principales protéines sont les suivantes:

- les protéines sarcoplasmiques

Cette fraction de protéines, solubles dans l'eau ou les solutions salines, constitue 30% à 35% des protéines totales du muscle et représente une centaine de protéines différentes. Ces protéines incluent les enzymes du cycle de la glycolyse, la myoglobine et les pigments musculaires. De fonctions biologiques

diverses, ces protéines partagent toutefois certaines caractéristiques communes: faible poids moléculaire, conformation globulaire et faible viscosité.

- les protéines myofibrillaires

Solubles dans les solutions salines plus concentrées, elles constituent 55% à 60% des protéines totales. Les principales fractions protéiques de celles-ci sont la myosine et l'actine qui sont impliquées dans les mouvements de relaxation du muscle vivant. Les myofibrilles sont composées de filaments minces et épais, imbriqués les uns dans les autres. La myosine représente environ 95% des protéines des filaments épais; les filaments minces étant composés d'actine, de tropomyosine, de troponine, de bêta-actinine (Figure 1.2)

- les protéines du stroma

Insolubles dans les solutions salines très concentrées, elles constituent 10% à 15% des protéines totales du muscle. Les deux principales protéines du stroma sont le collagène et l'élastine qui représentent plus de 50% de cette fraction protéique.

Figure 1.2: Organisation et composition d'un muscle squelettique (Forrest et al., 1975).

A: Muscle squelettique

B: Fibres musculaires

C: Fibres musculaires montrant des myofibrilles

D: Myofibrille montrant un sarcomère avec sa composition

E: Sarcomère montrant des myofilaments et leur organisation

F-I: Coupe transversale montrant l'arrangement des myofilaments dans un sarcomère

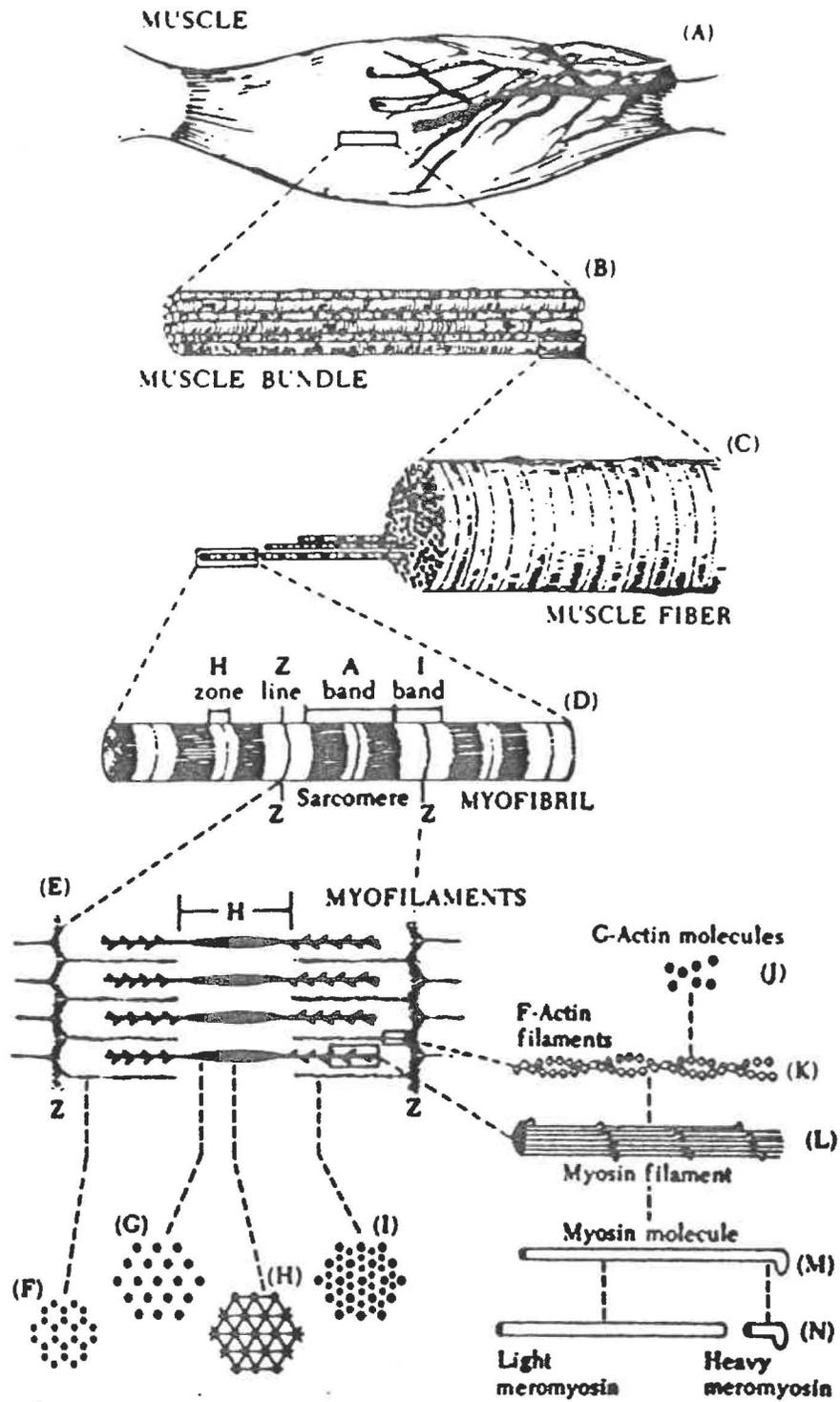
J-G: Molécules de G-Actine

K: Filaments de F-Actine

L: Filament de myosine

M: Molécule de myosine

N: Meromyosine



3.2 Composition protéique des fèves

Les fèves d'haricots commercialement connus sont dans la famille des légumineuses. Comme toutes les légumineuses, elles ont l'avantage de pouvoir aller chercher une partie de leur besoin en azote nutritif dans l'air puis, de le transférer dans le sol afin de contribuer à la restauration de l'azote des sols utilisés dans la majorité des plantes. Cette caractéristique des légumineuses fait des haricots, des plantes cultivables partout et même sur des sols déficients en azote. Du point de vue nutritionnel, les graines de fèves possèdent une teneur très élevée en protéines, à comparer aux céréales; et ceci s'explique par le fait que les graines présentent une composition en acides aminés complémentaires de ce que possède les céréales, ce qui justifie bien l'intérêt porté aux légumineuses comme source de protéines. Les graines des fèves d'haricots sont composées, d'un point de vue biochimique, de 11% d'eau, 23% de protéines, 6,8% de carbohydrates, 1,3% de gras, 3,9% de fibres et 3,6% de cendres. Les protéines de fèves sont composées de globuline, d'albumine, de glutéline, de gliadine, et sont classées en fonction de leur solubilité (Osborne, 1907) (Tableau 1.5).

La caractéristique de ces différentes protéines, sont les suivantes:

- Globuline et albumine

Ce sont des protéines solubles dans du Chlorure de Sodium et constituées de fractions caractérisées par des coefficients de sédimentation 11S et 7S (Cheftel et al.,1985). Cependant, la proportion de ces protéines diffère avec les variétés de fèves. Contrairement aux globulines qui constituent les protéines de réserve de la graine, les albumines regroupent la plupart des protéines représentant une activité biologique:

- . enzymes (lipoxygénases, uréases, amylases)
- . lectines (hémagglutinines)
- . inhibiteurs d'enzymes (facteurs antitrypsiques)

Tableau 1.5: Estimation en différentes protéines de quelques variétés de fèves

VARIETES	POIDS SECS DES FRACTIONS DE PROTEINES (%)				PROTEINE TOTALE EXTRACTABLE	PROTEINE TOTALE (%)
	ALBUMINE	GLOBULINE	GLUTELINE	GLIADINE		
Mala ^a	5.9	9.4	4.8	4.4	24.5	24.68
Nigeria B4 ^b	4.5	7.0	8.8	3.7	24.0	25.62
Nigeria B7 ^b	7.3	7.7	5.1	4.4	24.5	25.50
Nigeria A104 ^a	7.1	7.1	5.4	5.1	24.7	25.00
Prima ^a	5.7	3.9	5.3	4.1	19.0	22.00
Westbred ^a	4.7	5.8	5.6	4.5	20.6	23.21
Bakinido 3 ^a	6.4	6.9	5.7	4.0	23.0	25.00
Adzuki x Mala ^c	5.9	6.4	9.5	3.9	25.7	27.00

(Tella, 1980)

- ^a Fèves à enveloppe blanche
- ^b Fèves à enveloppe brune
- ^c Fèves à enveloppe rouge sombre

- Les gliadines

Solubles dans l'éthanol, elles sont divisées en deux groupes caractérisés par un polymorphisme de 20 à 30 gliadines différentes pour une même variété (Cheftel et al., 1985):

- . gliadines alpha bêta et gamma (poids moléculaire variant entre 30 000 à 45 000 daltons)
- . gliadines omega (poids moléculaire variant entre 60 000 et 80 000 daltons)

- Les glutélines

Solubles dans du NaOH, elles présentent un polymorphisme encore plus important que les gliadines en raison de leur tendance à s'associer par l'intermédiaire d'interactions hydrophobes, de liaisons hydrogènes et de ponts disulfures intermoléculaires.

Ces différentes fractions protéiques possèdent des compositions en acides aminés différents d'où, des répercussions sur le plan de la valeur nutritionnelle et sur les propriétés fonctionnelles .

3.3 Propriétés fonctionnelles des protéines

Les propriétés fonctionnelles des protéines sont des propriétés biochimiques leur permettant de contribuer à des caractéristiques désirées des aliments. La plupart des propriétés fonctionnelles influent sur le caractère sensoriel des aliments, notamment la texture mais peu aussi jouer un rôle dans le

comportement physique des aliments durant leur préparation, leur transformation ou leur entreposage. Alors que l'objectif des chercheurs est de fournir une explication mécanistique du comportement fonctionnel, l'état présent des connaissances ainsi que la complexité des divers systèmes alimentaires ne permettent pas de comprendre clairement comment une structure protéique donnée déterminera par exemple la structure finale d'un aliment.

Selon Cheftel(1985), les propriétés fonctionnelles des protéines peuvent être classées en trois groupes principaux:

- les propriétés d'hydratation (dépendant des interactions protéine-eau);
- les propriétés dépendant des interactions protéine-protéine;
- les propriétés de surface.

Le premier groupe inclut les propriétés telles que l'absorption et la rétention d'eau, la mouillabilité, le gonflement, l'adhésion, la dispersibilité, la solubilité, l'hydrophobicité et la viscosité.

Le deuxième groupe des propriétés intervient lors des phénomènes tels que la précipitation, la gélification et la formation des diverses autres structures (fibres et pâtes protéiques).

Le troisième groupe des propriétés concerne la tension superficielle, l'émulsification et les caractéristiques

moissantes de la protéine.

Ces groupes ne sont pas totalement indépendants par exemple, la gélification implique non seulement des interactions protéine-protéine mais aussi des interactions protéine-eau; la viscosité et la solubilité dépendent l'une et l'autre des interactions protéine-eau et protéine-protéine.

Les protéines alimentaires subissent habituellement des traitements physique et chimique pendant leur préparation et leur utilisation. Les traitements modérés de nature physique ou chimique provoquent en général une modification de la conformation alors que les traitements thermiques sévères ou l'utilisation de composés chimiques fortement réactifs agissent non seulement sur la conformation mais aussi sur la structure primaire de la protéine. La nature et la sévérité du traitement appliqué vont déterminer les modifications qui se produiront dans les propriétés fonctionnelles. L'irradiation à des doses inférieures à 10 kGy, considérée comme un traitement modéré, agit seulement par modifications de la structure tertiaire des protéines (Lichtin et al., 1973).

4. IRRADIATION DES ALIMENTS

4.1 Historique

L'irradiation des aliments n'est pas une technique nouvelle; la découverte des rayons X par Roentgen en 1895 et celle des substances radioactives par Becquerel en 1893 ont permis de mener des recherches, sur les effets biologiques que ces radiations peuvent produire (Goldblith, 1966). Ces premiers travaux ont permis la création des centres de recherches pour l'irradiation des aliments. Mais, du fait qu'à cette époque des sources radioactives étaient très coûteuses, ses applications étaient alors devenues presque impossible. Malgré tout, dès 1905 aux Etats-Unis, deux brevets ont été déposés pour des inventions visant à conserver des aliments, à l'aide des rayonnements ionisants. Un peu plus tard en 1929, un autre brevet fut déposé par un chercheur français pour l'utilisation des rayonnements ionisants comme moyen de préservation des aliments.

Dans le milieu des années 1940, l'intérêt pour l'irradiation des aliments resurgit, après que Huber (1945) ait suggéré l'utilisation d'un accélérateur d'électrons pour préserver les aliments. Cependant, ces accélérateurs étaient aussi trop coûteux et n'avaient pas d'applications industrielles directes à cette époque. Dans la même décennie, des radionucléides, tels que le Cobalt 60 et le Césium 137, émettant des rayonnements gamma furent découverts et sont venus stimulés les recherches sur l'irradiation

des aliments en permettant le développement des irradiateurs commerciaux.

4.2 Les différents types de radiation

Selon Jay (1978), une radiation peut être définie comme étant une propagation d'énergie à travers l'espace ou une matière. Donc, l'irradiation d'un aliment consiste à soumettre cet aliment aux rayonnements ionisants, émis par le Cobalt 60, le Césium 137 ou par des électrons d'énergie inférieure à 10MeV.

Les rayonnements ionisants sont des rayonnements énergétiques, capables de pénétrer d'autres atomes en produisant des particules portant des charges électriques que l'on appelle des ions (IAEA, 1989). Ces rayonnements ont des longueurs d'ondes inférieures ou égales à 2 000 Å et sont faits de particules Alpha, Bêta, Gamma, des rayons X et cosmiques. Le traitement des aliments nécessite des rayonnements pénétrants tels que:

- les rayonnements Gamma provenant de C^{60} ou C^{137}
- des électrons d'énergie inférieurs à 10 MeV générés par des accélérateurs d'électrons
- des rayonnements X d'énergie inférieure ou égale à 5MeV

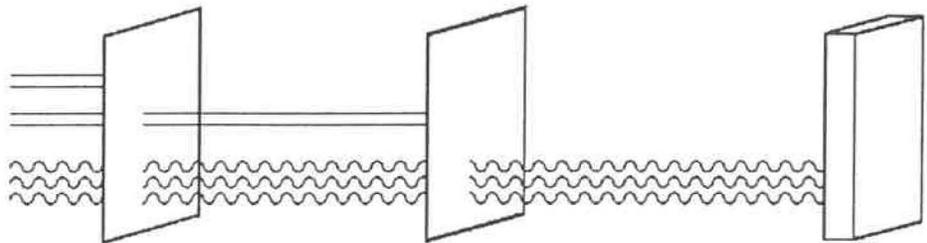
Cependant, les énergies portées par ces trois types de rayonnement sont toutes faibles pour induire une quelconque radioactivité dans les aliments; le seuil d'activation de la radioactivité se situant à 10 MeV (IAEA, 1989). La figure 1.3 illustre bien les différents pouvoirs de pénétration des rayonnements alpha, bêta, et gamma.

Le schéma d'une installation d'irradiation est constitué d'une source, qui est un Cobalt 60 ou un Césium 137, caractérisée par une radioactivité dont l'unité est le Curie. Le rayonnement Gamma qu'émet cette source produit dans l'air une ionisation dont la mesure permet de connaître la dose d'exposition exprimée en Roentgen. Ce rayonnement cède à la matière qu'il traverse une certaine quantité d'énergie, qu'il est possible de calculer avec une assez bonne précision et qui s'exprime en Rad ($1 \text{ Rad} = 10^{-1} \text{ Gray}$). C'est cette quantité d'énergie cédée à la matière, ou dose absorbée, qui est communément mais improprement appelée dose d'irradiation.

Le Rad, unité de dose absorbée, ramenée à un gramme de substance, est égal à 100 erg./g. Le Roentgen, unité de dose d'exposition, est rapporté à 1 cm³ d'air normal: l'énergie dissipée dans un gramme d'air par 1 Roentgen est égal à 84 erg. soit, 0.84 Rad . Le Curie est la quantité d'un radioélément où se produisent 3.7×10^{10} désintégration/seconde.

Figure 1.3: Différents pouvoirs de pénétration des rayonnements Alpha, Bêta et Gamma (Grant, 1990)

Alpha He^{++}
Bêta e^{-}
Gamma photon



Feuille de papier

Feuille d'aluminium

Bloc de plomb

Un radioélément se caractérise également par sa demi-vie radioactive, i.e le temps au bout duquel il a perdu la moitié de sa radioactivité. La demi-vie du Cobalt 60 est de 5.24 années, celle du Césium 137, de 30 années.

Une source de 1 Curie de Cobalt 60 ou Césium 137 délivre en une heure à un aliment, de densité 1 placé dans l'air à 10 cm de distance, une dose de 140 Rad, et à 100 cm de distance une dose de 1,4 Rad; la dose étant inversement proportionnelle au carré de la distance.

4.3 Applications des rayonnements ionisants

Le traitement des aliments avec les rayonnements ionisants visent à:

- détruire les microorganismes pathogènes
- prolonger la durée de conservation à l'étalage des aliments d'origine animale et végétale en détruisant les microorganismes responsables de leur détérioration. Ceci permet de réduire l'utilisation de substances chimiques servant normalement à leur préservation
- éliminer les insectes dans les grains, les fruits et les épices entreposés et remplacer ainsi la fumigation
- détruire les parasites et les microorganismes présents dans les germe de certaines légumes-racines entreposés comme les pommes de terre, les oignons et l'ail

- raccourcir le temps de cuisson de certains aliments et en modifier les propriétés physiques

De plus en plus, les rayonnements ionisants sont utilisés pour améliorer les propriétés fonctionnelles des aliments. Ces modifications sont engendrées par l'hydrolyse partielle de leurs protéines et en permet ainsi une meilleure disponibilité.

Les terminologies suivantes ont été adoptées par Goresline et al. (1964) lorsque les rayonnements ionisants ont été utilisés pour réduire la flore microbienne dans les aliments. On entend par:

- radappertisation: la stérilisation a plus de 1 Mrad (10kGy)
- radicidation: la disparition des pathogènes (de 75 Krad à 300 Krad) ou (0.8 à 3 kGy)
- radurisation: le traitement tentant à prolonger la conservation obtenue par rallongement de temps de radicidation

4.4 Modes d'action des rayonnements ionisants

Les rayonnements ionisants exercent leur action par deux processus:

- soit par la formation de paires d'électrons
- ou par radiolyse des molécules d'eau

4.4.1 Production de paires d'électrons

L'énergie des rayonnements Gamma du Cobalt 60, lorsqu'elle pénètre dans l'aliment, est suffisante (1.17 MeV à 1.33 MeV) pour éjecter un électron dans l'aliment, provoquant une ionisation ou une excitation des molécules. L'ionisation des aliments peut se produire selon les réactions présentées à la Figure 1.4, soit par:

- production d'effets photo-électriques où le photon cède toute son énergie à l'électron rencontré, provoquant ainsi son éjection.

- effets compton où seule une partie de l'énergie du photon est transmis à l'électron rencontré.

- production de paires d'électrons où le photon en rentrant dans le champ magnétique autour d'un atome, se transforme en deux électrons de charges opposées.

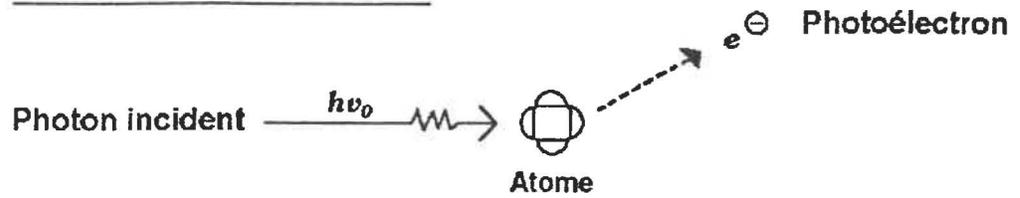
Ces réactions se produisent dans les aliments en une fraction de seconde (Silverman et Sinskey, 1977) et sont à l'origine des effets biochimiques induits par les rayonnements ionisants. La production de paires d'électrons est le mode d'ionisation le plus efficace, du fait qu'elle se produit sans engendrer une augmentation des températures dans l'aliment irradié (Desrosiers, 1970).

4.4.2 Radiolyse de l'eau

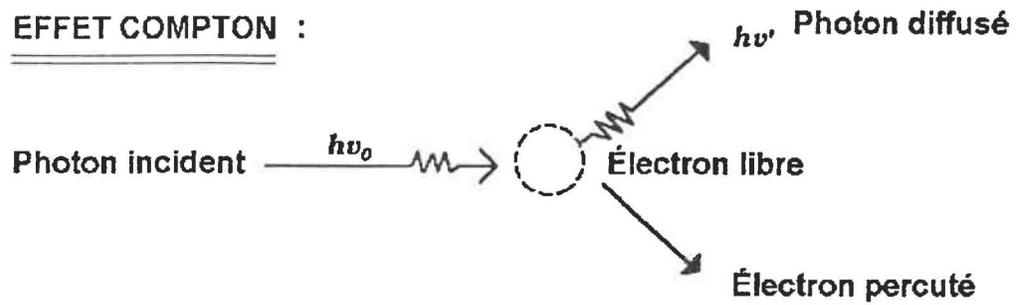
L'irradiation des aliments à contenu élevé en eau, provoque également une ionisation des molécules d'eau qui induit la formation d'hydrogène réactif et des radicaux OH[·], considérés

Figure 1.4: Différents modes d'action des rayonnements ionisants (Grant, 1990)

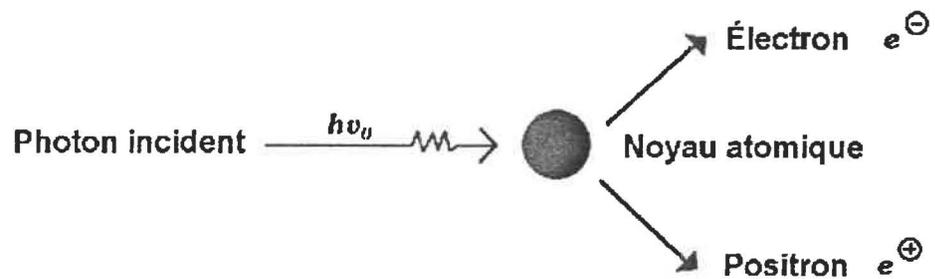
EFFET PHOTOÉLECTRIQUE :



EFFET COMPTON :



PRODUCTION DE PAIRES :



comme des agents oxydants ou réducteurs.

radiolyse



La présence d'oxygène dissout favorise la formation des radicaux de peroxyde très réactif à partir du radical hydrogène H^\cdot .



L'hydrogène peroxyde et le radical peroxyde sont aussi reconnus pour leur pouvoir très oxydant ou réducteur et contribuent aux effets biochimiques des rayonnements ionisants.

4.5 Actions sur les microorganismes

L'un des principaux effets de l'irradiation sur les aliments est son action létale sur les microorganismes, et les doses létales sont d'autant plus faibles que l'organisme est plus complexe.

Un microorganisme n'est vivant que lorsqu'il dispose de sa capacité de formation de colonies sur un milieu de culture. Cependant, sa mort après une irradiation ne se prête pas à une définition aussi évidente et on préfère utiliser le terme "inactivation" pour décrire l'effet de l'irradiation sur un microorganisme, du fait que les processus métaboliques (respiration et motilité) peuvent bien continuer, même des heures après l'irradiation suivi d'une perte de la capacité de formation de colonies sur un milieu de cultures (Bridges et Horne, 1959). L'inactivation d'une cellule de microorganisme suite à l'irradiation, se fait par un procédé complexe qui exige de l'énergie et des changements moléculaires suivis d'un désordre métabolique qui empêche les microorganismes de se reproduire (Thornley, 1963; Singh et Singh, 1982).

Lorsqu'un rayonnement ionisant rencontre une matière biologique sur sa trajectoire, il interagit avec cette matière de façon suivante :

- soit par action directe
- ou par action indirecte

qui sont deux concepts développés par Lea (1956).

4.5.1 Actions directes

Dans ce mode d'action, les rayonnements ionisants, après altération de la membrane cellulaire, interagissent directement

avec les acides nucléiques, sur des brins d'ADN de la cellule et l'ionisent, déclenchant ainsi un désordre métabolique qui s'il n'est pas autoréparé, peut mener à l'inactivation des microorganismes. En fait, les rayonnements ionisants causent deux types de lésions majeures sur la molécule d'ADN: une rupture simple et une rupture double (Moseley, 1984) (Figure 1.5).

Les ruptures simples se produisent entre la base et le sucre d'un nucléotide ou entre un sucre et un phosphate, entraînant la rupture de l'un des brins de la molécule: ces lésions simples sont souvent produites par des radicaux OH[.] et constituent un évènement fréquent.

Les lésions doubles (dix fois plus rares) sont des cassures concernant simultanément les deux brins de la molécule d'ADN à des niveaux très voisins. Bon nombre de microorganismes peuvent réparer la plupart des lésions simples mais très peu seulement tolèrent les lésions à double brins (Grant, 1990). Les microorganismes ayant la capacité de réparer les lésions doubles deviennent les plus radiorésistants.

Les microorganismes inactivés peuvent être évalués en effectuant le compte des cellules vivantes avant et après irradiation et en traçant une courbe de survie. Il existe trois différentes courbes de survie: courbes exponentielles, sigmoïdales et complexes (Silverman et Sinskey, 1977), illustré à la

Figure 1.6 .

Figure 1.5: Rupture de brins sur la molécule d'ADN (J.P. Vasseur, 1991)

rupture simple

ruptures doubles

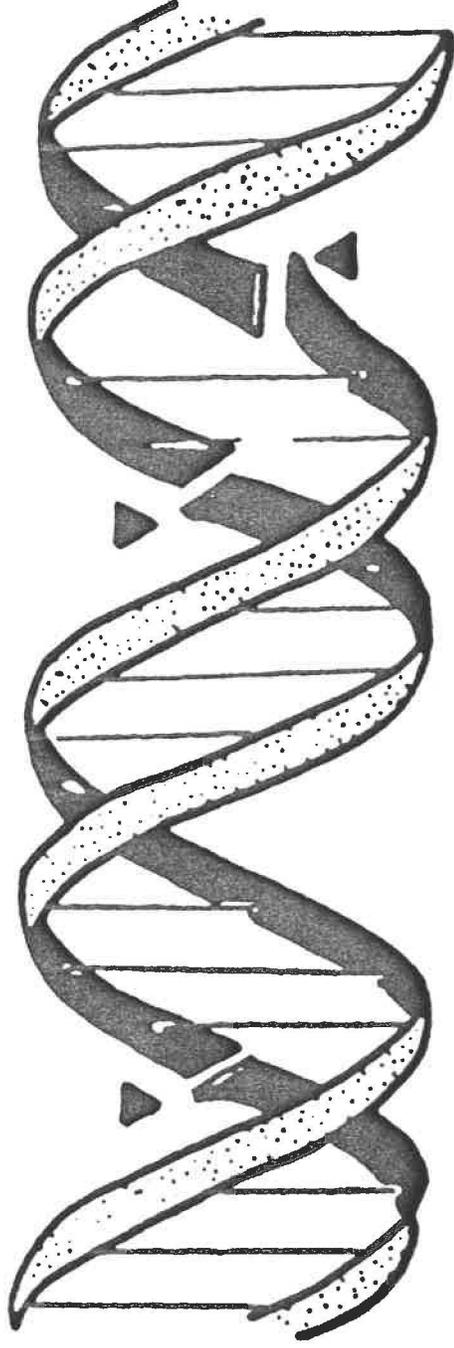
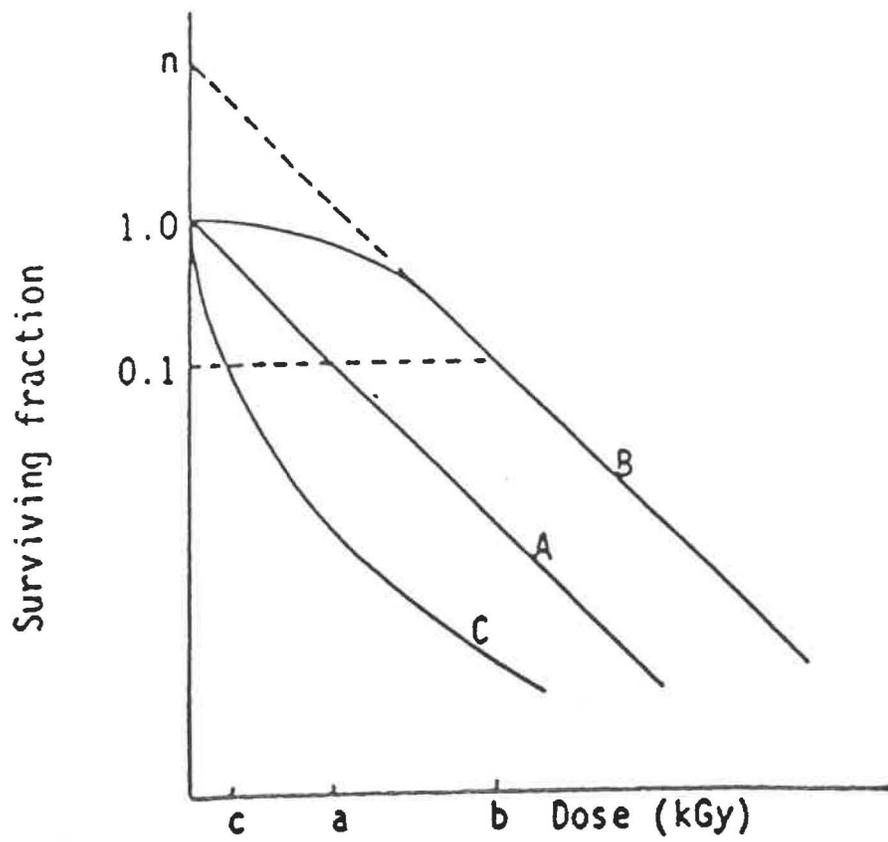


Figure 1.6: Différentes courbes de survie de microorganismes irradiés: A) courbe exponentielle, B) courbe sigmoïde, C) courbe complexe (Grant, 1990)



a, b and c = D_{10} values for each type of curve.

Les courbes exponentielles sont représentatives des microorganismes radiosensibles et dans ce cas, la D_{10} , qui est la dose nécessaire pour réduire de 90% la population des microorganismes (Thibeault, 1989), peut être déterminée sur n'importe quelle portion de la ligne droite. Les courbes sigmoïdales sont caractéristiques des microorganismes radiorésistants, et enfin, les courbes complexes ou composites sont caractéristiques des populations microbiennes hétérogènes, du point de vue de leur radiosensibilité.

4.5.2 Actions indirectes

Les actions directes des rayonnements ionisants, responsables des lésions simples et doubles des molécules d'ADN, sont souvent accompagnées de certains effets indirects, liés à l'action des radicaux libres formés lors de la radiolyse de l'eau et des composés cellulaires tels que le cytoplasme et la membrane cellulaire. Ces effets directs et indirects ont tous lieux simultanément à l'intérieur des microorganismes, subissant une irradiation.

4.5.3 Radiorésistance des microorganismes

Les effets de l'irradiation sur les microorganismes ne sont pas tous de même nature pour une même dose donnée. Ils dépendent de la sensibilité des microorganismes aux rayonnements ionisants, ce qui varie selon plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques.

En effet, la température, le pH, la concentration en oxygène, la composition chimique et biochimique du tampon sont tous des facteurs extrinsèques qui influencent l'efficacité des traitements à l'irradiation. Les facteurs intrinsèques affectant la résistance des microorganismes sont: le genre, l'espèce, la souche, la structure et la dimension de l'ADN, multiplicité du matériel génétique et contenu en eau du cytoplasme. Les Tableaux 1.6 et 1.7 nous présentent respectivement les D_{10} de certaines moisissures et bactéries reliées aux aliments. Sur les deux tableaux, les organismes les plus radiosensibles, ont été cités au début de la liste et les moins radiosensibles à la fin.

Tableau 1.6: Radiorésistance de certaines moisissures de fèves

MOISSURES	D_{10} (kGy)
<i>Penicillium viridicatum</i>	1.4
<i>Aspergillus flavus</i>	1.7
<i>Aspergillus niger</i>	2.5
<i>Rhizopus nigricans</i>	2.5
<i>Alternaria sp.</i>	6.0
<i>Botrytis cinerea</i>	5.0
<i>Cladosporium sp.</i>	6.0

(Diehl, 1990)

Tableau 1.7: Radiorésistance de certaines bactéries végétatives de porc

ORGANISMES	D₁₀ (kGy)
<i>Pseudomonas fragi</i>	0.18
<i>Pseudomonas putrefaciens</i>	0.17
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.12
<i>Flavobacterium sp.</i>	0.09
<i>Escherichia coli</i>	0.25
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0.08
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0.24
<i>Moraxella sp.</i>	0.96
<i>Acinetobacter sp.</i>	0.44
<i>Kurthia sp.</i>	0.37
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	0.44
<i>Lactobacillus sp.</i>	0.38
<i>Staphylococcus xylosum</i>	0.67
<i>Micrococcus varians</i>	0.70

(Diehl, 1990)

4.6 Actions sur les protéines

Dans un premier temps, l'action des rayonnements ionisants sur les macromolécules des aliments a été longtemps considérée comme un effet secondaire aux traitements de débactérisation. De nos jours, avec tous les problèmes de l'alimentation humaine, liée à la

déficiences des aliments riches en protéines, l'irradiation des aliments à des doses modérées se fait de plus en plus une place de choix à côté des méthodes traditionnelles (chimique, thermique, enzymatique). Cette technologie permettant d'accroître la biodisponibilité des protéines en améliorant leurs propriétés fonctionnelles et d'optimiser l'utilisation des protéines d'origine animale ou végétale.

Comme les autres traitements modérés de nature chimique ou physique, les rayonnements ionisants utilisés à des doses inférieures à 10 kGy, provoquent une modification de la conformation des protéines en agissant surtout sur les structures secondaire, tertiaire et quaternaire. Mais, l'utilisation de ces rayonnements, devient de plus en plus prometteur à comparer aux autres, du fait qu'ils présentent moins de risques pour la santé que les méthodes chimiques et traditionnelles. Selon Means et Feeney (1971), les modifications chimiques d'une protéine font face à deux problèmes principaux:

- risques pour la santé du fait que de nombreux réactifs chimiques sont hautement toxiques

- réduction de la valeur nutritionnelle des protéines car, les modifications mettent souvent en jeu les acides aminés essentiels qui ne sont plus biologiquement disponibles.

D'autres études, menées par Beerens et Saint Lebe (1979) sur les protéines d'oeuf, ont montré que l'autoclave perturbe beaucoup

Tableau 1.8: Modifications des acides aminés du jaune d'oeuf après pasteurisation thermique, irradiation, traitement thermique (53.5°C, 60 min.) et utilisation de peroxydes

ACIDES AMINES	μ Mole . g DE JAUNE D'OEUF SECHE					
	NON TRAITE	THERMOPASTEURISE		0.65 Mrad	53.3°C 60 MIN.	PERO XYDE
		61.0°C	64.4°C			
Ac.aspartique	1.73	1.75	2.25	2.66	1.85	1.57
Thréonine	2.25	2.01	2.38	3.95	2.61	1.99
Serine	2.97	4.02	4.66	5.46	4.12	2.78
Ac.glutamique	4.06	4.10	7.18	6.90	5.04	4.03
Proline	1.31	1.59	2.82	2.03	2.56	1.59
Glycine	1.27	1.58	2.42	2.13	1.77	1.21
Alanine	1.34	1.71	3.41	2.89	1.90	1.28
Valine	2.00	2.42	2.78	3.83	1.98	1.61
Methionine	0.67	0.79	0.85	0.90	0.64	0.54
Isoleucine	1.42	1.97	2.11	2.59	1.60	1.11
Leucine	2.71	3.29	4.15	5.14	3.00	1.96
Tyrosine	1.39	1.83	2.29	2.87	1.95	1.22
Phenylalanine	1.59	1.56	1.96	2.21	1.59	0.94
Lysine	4.32	5.46	6.36	6.58	5.85	4.54
Histidine	1.37	2.24	2.54	2.62	1.66	1.70
Arginine	5.52	5.92	8.16	7.32	8.28	6.23
Total	32.92	42.24	56.62	60.08	45.76	34.3

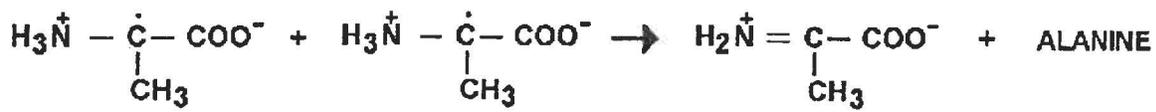
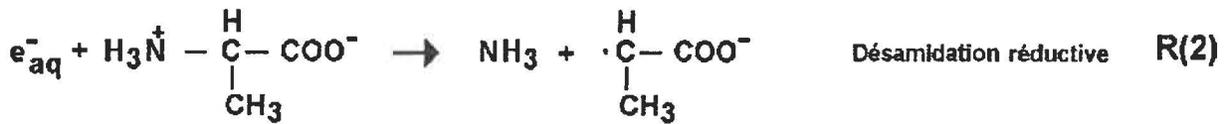
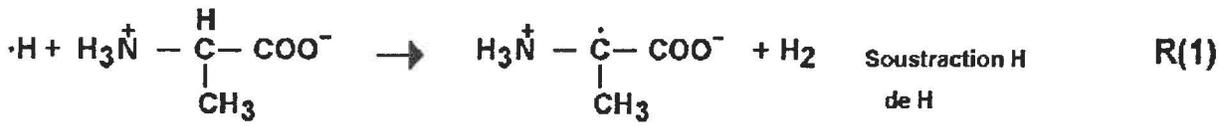
(Beerens, 1979)

plus que l'irradiation, la valeur protéique des régimes complets (Tableau 1.8).

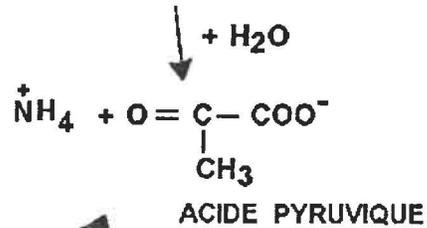
Etant donné que les propriétés structurales des protéines sont grandement influencées par leur composition en acides aminés, la séquence et la taille des acides aminés, ces propriétés peuvent être modifiées facilement par altération de la structure de certains acides aminés suite à la pasteurisation: hydrolyse des amides latéraux de même que les liaisons sulfhydriles et disulfides.

Les principales réactions qui ont lieu dans les protéines des aliments irradiés sont assez comparables. Celles-ci sont notamment des réactions de désamidation, décarboxylation, hydrolyse de ponts disulfides (S-S), oxydation des groupements sulfhydriles, décomposition des chaînes latérales des acides aminés, formation des radicaux libres.

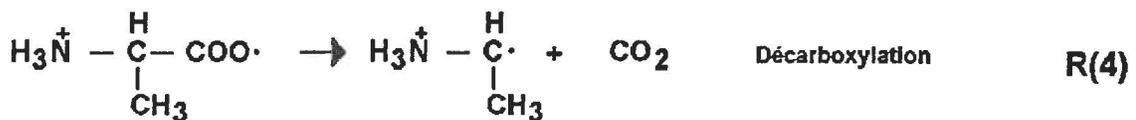
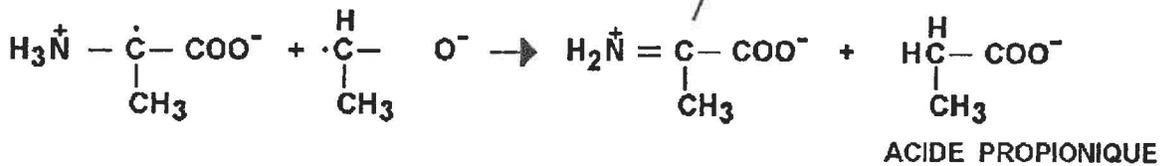
L'irradiation des acides aminés simples tels que l'alanine en présence d'eau, peut permettre la formation de molécules de H_2O , H_2 , et NH_3 au cours des réactions R(1) et R(2) suivantes. Les radicaux produits au cours de ces réactions peuvent à leur tour réagir entre eux pour former soit, de l'alanine, de l'acide pyruvique, du proprionate, du dioxyde de carbone, de l'éthylamine ou de l'acétaldéhyde comme l'indique bien les réactions R(3), R(4), R(5) et R(6). Cependant, toutes ces réactions n'ont pas lieu dans les mêmes proportions. La prédominance de l'amoniaque par rapport à l'acide pyruvique et à l'acide propionique montrent bien



L'acide aminé instable est immédiatement hydrolysé



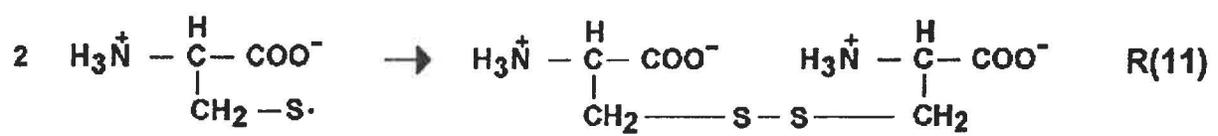
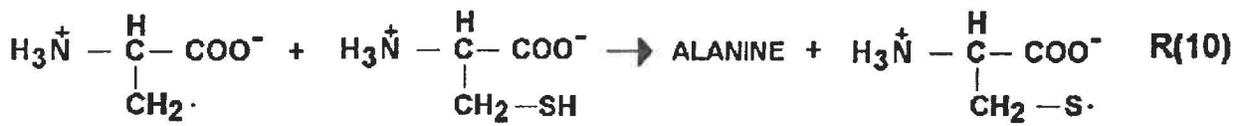
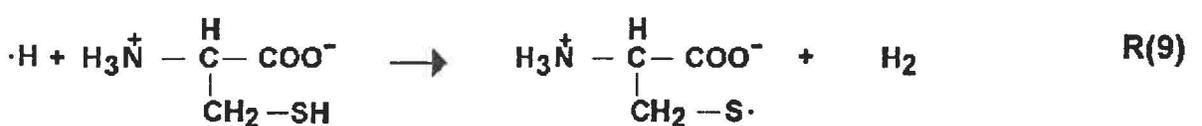
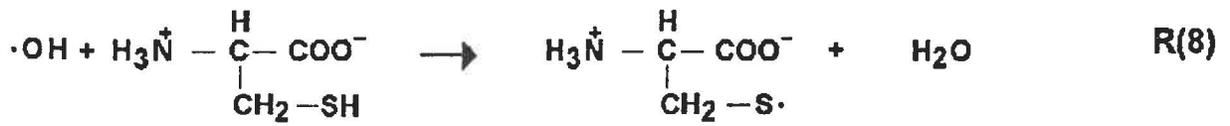
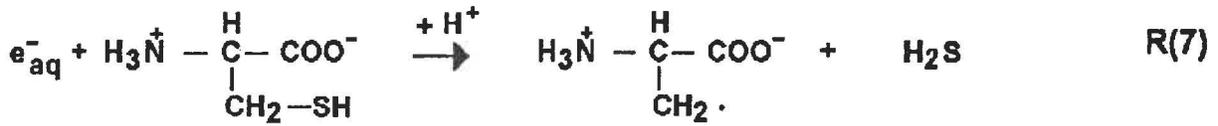
R(3)



l'importance de la désamidation par rapport à la décarboxylation. La présence de l'oxygène au cours des traitements à l'irradiation peut aussi influencer les réactions. C'est ainsi qu'il se produira une désamidation oxydative plutôt qu'une désamidation réductive. En effet, en présence d'oxygène, les actions des électrons aqueux (e_{aq}) et des radicaux hydrogènes $H\cdot$ qui attaquent les molécules, sont inhibées: $OH\cdot$ devient le principal agent de radiolyse.

Dans une molécule protéique, la désamidation souhaitée est celle qui évite une hydrolyse poussée des liens peptidiques entre les acides aminés. En effet, une altération de la structure primaire d'une protéine, suite à une dénaturation, affecte ses propriétés fonctionnelles (Nakai et Powrie, 1981). Les types de désamidation attendus lors de l'irradiation des protéines alimentaires sont les désamidations qui ont lieu après hydrolyse des ponts amides latéraux de l'acide glutamique et l'acide aspartique.

Les acides aminés soufrés tels que la cystéine, la cystine et la méthionine sont également très réactifs vis-à-vis des électrons hydratés tel que e_{aq} et des radicaux $OH\cdot$ et $\cdot H$. Ils attaquent préférentiellement les groupements SH et induisent la formation de SH_2 , de H_2O selon les réactions R(7), R(8) et R(9). Les radicaux libres d'alanine ou de cystéine peuvent, à leur tour réagir selon les réactions R(10) et R(11). Ainsi, les produits



qui peuvent résulter de l'irradiation de la cystéine sont l'hydrogène, les sulfhydriles, l'alanine ou la cystine.

L'irradiation de la cystine quant à elle aboutit souvent à la rupture du pont disulfide et est considérée comme l'une des réactions les plus importantes lors de l'irradiation d'une protéine. En effet, la rupture des ponts S-S, l'oxydation des SH et la désamidation dans une protéine sont les principales réactions qui, lorsqu'elles ont lieu, aident à augmenter la flexibilité des protéines, permettant ainsi d'améliorer les propriétés fonctionnelles de ces dernières (Nakai et al., 1981; Shih, 1991).

5. CONCLUSION

Cette revue de littérature nous a permis de mettre en évidence les principaux facteurs contribuant à la détérioration et à la perte des denrées entreposées telles que le porc et les fèves. Elle nous a également permis de savoir que les méthodes de conservation utilisées pour allonger le temps d'entreposage des aliments afin d'éviter les pertes peuvent en même temps améliorer les propriétés fonctionnelles des aliments. Cependant, la plupart des méthodes de conservation ne sont pas sans inconvénients:

- La congélation n'assainit et ne stabilise pas définitivement un aliment, elle réduit seulement la vitesse des évolutions physico-chimiques et bactériologiques; un aliment pollué lors de sa congélation peut le rester pendant toute sa conservation.

Revenus à température ambiante, les microorganismes reprennent leur développement.

- L'appertisation contribue à la rarification de certains principes nutritifs notamment les vitamines dans les aliments.

- Les traitements chimiques agissent par leur toxicité vis-à-vis des contaminants et il serait préférable de ne pas trop en abuser: par exemple, l'oxyde d'éthylène utilisé pour éliminer les bactéries et les charançons des céréales est à la fois cancérigène et difficile à éliminer.

Par contre, l'irradiation des aliments à des doses inférieures à 10 kGy est un traitement qui permet d'augmenter la durée de conservation des aliments tout en améliorant la qualité microbiologique et digestive, sans trop d'inconvénients secondaires.

De plus en plus, des recherches sont effectuées sur les qualités biochimiques et microbiologiques des aliments irradiés. Parmi ces travaux, quelques-uns concernent les propriétés fonctionnelles des aliments irradiés (Taub et al., 1976; Zabielski et al., 1984; Latreille et al., 1993), de même que l'effet l'irradiation sur l'entreposage des aliments (Thibault et al., 1991; Lambert et al., 1992; Baulieu et al., 1992).

Toutefois, la fonctionnalité des protéines en fonction du degré de désamidation et de désulfuration a fait l'objet de très peu d'études chez le porc et les fèves (*Vigna unguiculata*) et de même que l'évolution de la flore de bactéries psychotrophes,

mésophiles et des moisissures, suite à l'irradiation. Nous croyons qu'une variation de la dose et du débit de dose peut réduire ces flores tout en améliorant les propriétés fonctionnelles de leurs protéines.

OBJECTIFS DE LA RECHERCHE

Les objectifs de cette recherche sont:

1. analyser les effets de l'irradiation sur les propriétés fonctionnelles (désamidation, désulfuration, hydrophobicité et solubilité) de protéines de porc et de fèves irradiées aux doses de 0, 2, 4 et 8 kGy; à des débits de doses de 38.1 et 4.4 kGy/h

2. évaluer les effets de l'irradiation sur la flore microbienne du porc et des fèves, respectivement irradiés à 0, 1, 3 kGy puis à 0, 1.5, 3 kGy à un débit de dose de 20 kGy/h par le dénombrement de la flore des *Pseudomonas*, des mésophiles, des psychotrophes chez le porc et des moisissures chez les fèves après irradiation.

MATERIEL ET METHODES

1. PORC ET FEVES

1.1 Provenance

Les longes (*longissimus dorsi*) de porc et les fèves ont été obtenues dans un marché à grande surface (Chomedey, Laval). Les fèves sont de l'espèce *Vigna unguiculata*.

1.2 Irradiation

Pour les analyses biochimiques, des échantillons de porc et de fèves ont été soumis à des doses d'irradiation de 2, 4 et 8 kGy au débits de dose de 32.1 et 4.4 kGy/h, respectivement dans un irradiateur de type "Underwater calibrator irradiator" et un Gamma-cell 220, tous équipés d'une source de Cobalt 60 (Nordion International Inc., Kanata, Ontario). Ces traitements d'irradiation ont été effectués au Centre d'Irradiation du Canada (Laval, Canada). Les échantillons étaient placés dans un bain de glace durant les traitements afin de maintenir la température à 4°C.

Pour les analyses microbiologiques, les échantillons ont été irradiés dans un irradiateur "Underwater calibrator", à des doses de 1 et 3 kGy pour le porc et 1.5 et 3 kGy pour les fèves, à un débit de dose de 20 kGy/h. Cette diminution du débit de dose s'explique par une baisse du nombre de curies de la source avec le temps.

Trois séries différentes d'échantillons ont été irradiés à chaque dose et les analyses effectuées en triplicata.

2. ANALYSES BIOCHIMIQUES

2.1 Préparation des échantillons

Les analyses biochimiques ont été procédées sur des échantillons de porc et fèves irradiés et homogénéisés à l'aide d'un "homogénéisateur" conventionnel à lames.

2.1.2 Précipitation des protéines pour dosage d'ammoniaque

Le dosage d'ammoniaque dans le porc irradié a été obtenu en utilisant le kit d'ammoniaque (Boehringer Mannheim, Canada) (Bergmeyer et al. 1985). Cinq grammes de viande homogénéisée a été prélevée et mélangée à 20 ml de TCA 10% (acide trichloro-acétique), l'ensemble homogénéisé pendant environ 2 minutes, puis transféré avec 40 ml d'eau distillée dans un bécher où le pH est ajusté à 7, d'abord avec du KOH (5 moles/l), puis du KOH (2 moles/l). Le tout fut par la suite transféré dans une fiole de 100 ml et le volume complété au trait de jauge avec de l'eau distillée. Le mélange a été réfrigéré pendant 20 minutes afin de permettre la séparation du gras et des protéines précipitées au TCA 10% . Le surnageant fut filtré et dosé en ammoniaque.

L'ammoniaque dans les fèves irradiées a été dosé selon la même méthode quelque peu modifiée . En effet, 10 g de poudre de fèves ont été mélangées à 50 ml d'eau à 70°C puis homogénéisées avant précipitation des protéines au TCA 10% .

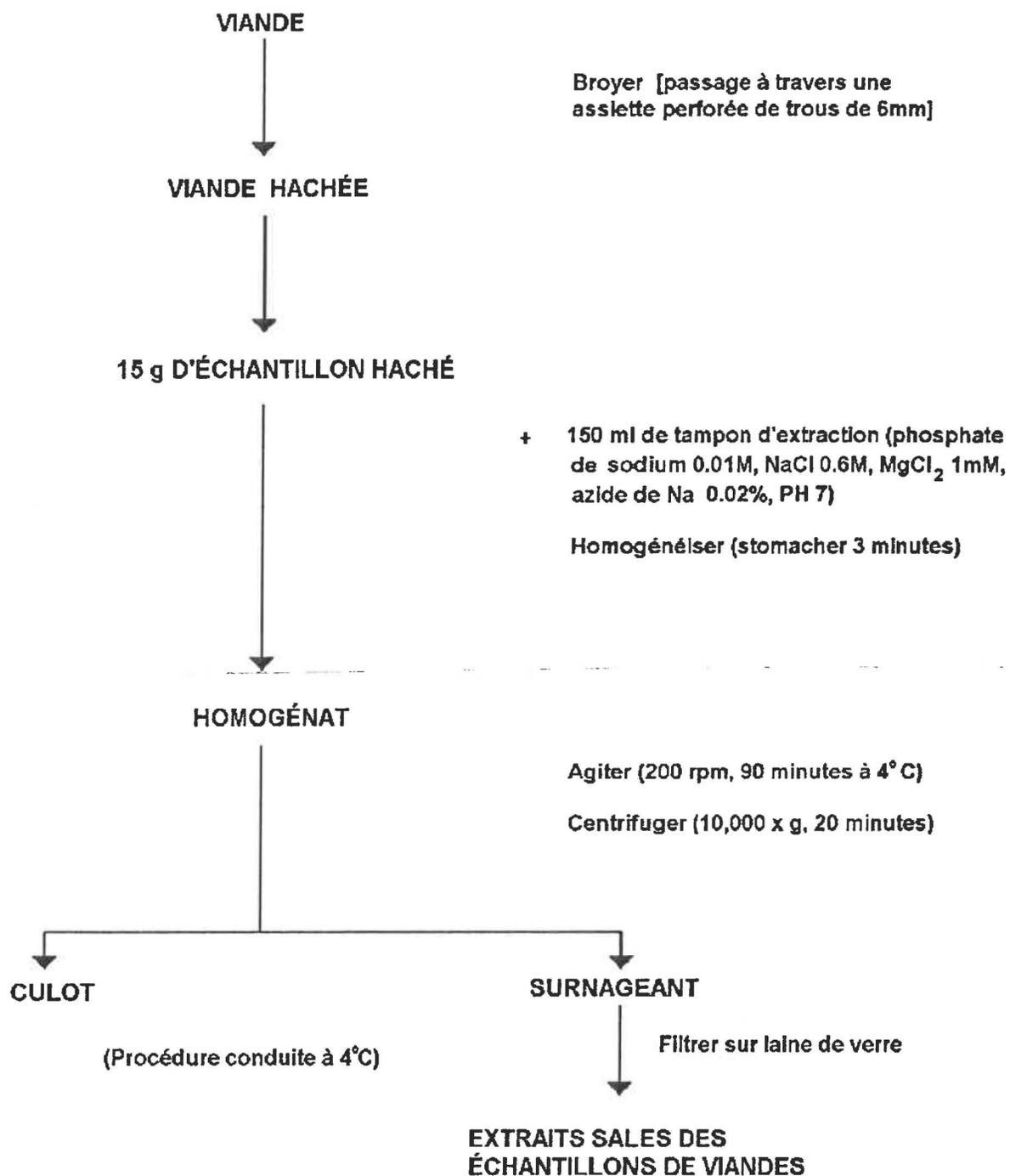
La séparation entre culot et surnageant fut effectué par centrifugation à 27 000 g à l'aide d'une centrifugeuse Sorvall de modèle RC5C (Dupont, Canada) et le surnageant recueilli pour son dosage en ammoniacque.

2.1.3 Préparation des extraits de protéines

L'extraction des protéines myofibrillaires de porc a été effectuée selon la méthode de Li-Chan et al. (1984) (figure 2.1). Le tampon utilisé dans cette extraction est un sel composé de 0.01M de phosphate de sodium, 0.6M de NaCl, 1mM de MgCl₂ et 0.02% d'Azide de sodium à pH 7.

L'albumine et la globuline, majoritaires dans les fèves de *Vigna unguiculata*, ont été extraites selon la méthode modifiée de de Séfa-Dédeh et Stanley (1979). 15 g de fèves pulvérisées dans un mélangeur conventionnel, ont été ajoutées à 150 ml de tampon de composition identique à celui utilisé pour extraire les protéines de porc. L'ensemble a été homogénéisé pendant 90 minutes dans un bain chaud à 70°C, ensuite centrifugé à 5 000 g pendant 20 minutes. Le surnageant recueilli fut filtré sur laine de verre avant dosage des protéines.

Figure 2.1 Préparation des extraits protéiques des échantillons de porc



2.2 Dosage des extraits de protéines

Les extraits de protéines sont analysés pour leur contenu en protéines à l'aide du kit de Bio-Rad (Richmond, USA), établi à partir de la méthode de Bradford. Cette méthode est basée sur l'observation que l'absorbance maximale pour une solution acide de Bleu de Coomassie G-250 passe de 465 nm à 595nm lorsque se produit sa liaison aux protéines. La coloration obtenue, mesurée à 595 nm, est due à une déprotonation successive du réactif coloré et qui est fonction de la présence de protéines.

A chaque jour d'analyses, une droite d'étalonnage a été réalisée avec l'aide d'un standard de Bovine Serum Albumine (BSA) à différentes concentrations. Le dosage des protéines des extraits requiert une dilution décimale avec le tampon d'extraction afin de réduire la concentration protéique. A 0.1 ml des extraits dilués, sont ajoutés 5 ml de réactifs colorés (Bleu de Coomassie en solution acide). Les tubes sont passés au vortex et après 5 minutes à 1 heure, l'absorbance à 595 nm (A_{595}) est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre Varian DMS 200 contre un blanc réactif (sans protéine). Par analyses de régression linéaire du tracé de A_{595} versus la concentration des standards, on obtient l'équation de la droite utilisée pour calculer la concentration protéique des extraits.

2.3 Détermination du degré de désamidation des protéines

2.3.1 Dosage d'ammoniaque

Le degré de désamidation a été déterminé par dosage d'ammoniaque dans le surnageant récupéré après précipitations des protéines au TCA 10%. L'ammoniaque a été dosé selon la méthode enzymatique de Bergmeyer et Beutler (1985) à l'aide du kit d'ammoniaque (Boehringer Mannheim, Canada). Ce kit est en fait un test combiné ayant pour principe la réaction suivante:

GIDH



La quantité de NADH oxydé dans la réaction ci-haut, étant stoichiométrique avec la quantité d'ammoniaque, celle-ci est déterminée en utilisant l'équation ci-dessous. Le passage de NADH à NAD⁺ produit une variation négative de l'absorbance mesurée à une longueur d'ondes de 340 nm au spectrophotomètre.

$$C = \frac{V \times PM}{c \times d \times v \times 1000} \times (A_1 - A_2)$$

V = volume final en ml

PM = poids moléculaire de la substance à analyser
(g/mol)

$C = \mu\text{g de NH}_3/\text{ml de solution}$

$d = \text{trajectoire de la lumière (cm)}$

$v = \text{volume d'échantillon en ml}$

Pour déterminer l'absorbance, 1 ml de réactif fourni dans le kit est ajouté à une pastille (aussi fournie dans le kit); l'ensemble est mélangé à 1 ml d'eau et 1 ml d'extraits à analyser. Après agitation, une première mesure de l'absorbance (A_1) du mélange est lue au spectrophotomètre (Varian DMS 200) après environ 5 minutes, à une température entre 20°C et 25°C, à une longueur d'ondes de 340 nm. Ensuite, 0.02 ml de solution enzymatique a été ajoutée à ce dernier mélange et après 20 minutes d'agitation, une deuxième absorbance (A_2) fut mesurée à des intervalles de 2 minutes jusqu'à ce que la réaction se stabilise. La valeur de l'absorbance finale est déterminée en faisant la différence de A_1 et de A_2 pour le blanc (mélange sans protéine) et entre le blanc et l'échantillon (mélange avec protéines).

$$(A_1 - A_2) = (A_1 - A_2)_{\text{échantillon}} - (A_1 - A_2)_{\text{blanc}}$$

2.3.2 Calcul du degré de désamidation

La désamidation des protéines irradiées a été calculée à partir de la quantité d'ammoniaque dosée dans les extraits de protéines irradiées par rapport au témoin par la méthode Winton et Winton (1945) en utilisant l'équation suivante:

$$\% \text{ désamidation} = \frac{\text{NH}_3 \text{ E. irradié} - \text{NH}_3 \text{ Témoin}}{\text{NH}_3 \text{ Témoin}} \times 100$$

2.4 Détermination des SH disponibles

Les SH disponibles dans les différents échantillons de protéines ont été déterminés par la méthode de Li-Chan (1983) avec l'aide du réactif d'Ellman (acide 5-5'dithiobis-2 nitrobenzoïque). Les extraits protéiques sont dilués pour obtenir une concentration protéique de 0.4 mg/ml dans 1,5 ml de tampon d'extraction. La couleur est développée par l'addition de 0.1 ml de réactif d'Ellman (4 mg/ml dans le tampon d'extraction). Les tubes sont passés au vortex et l'absorbance est mesurée à 412 nm après 15 minutes d'incubation à température ambiante. Enfin, le contenu en SH de l'extrait est calculé, après mesure de l'absorbance, en utilisant l'équation ci-dessous.

$$Q_{SH} = \frac{73.53 \times D}{C} \times A_{412}$$

A = absorbance à 412 (nm)

C = concentration protéique des extraits (mg/ml)

D = facteur de dilution

$Q_{SH} = \mu\text{M SH/g}$

2.5 Détermination de la solubilité des protéines

La solubilité des protéines myofibrillaires a été déterminée selon la méthode de Li-Chan et al. (1984) en utilisant les protéines extraites. Les aliquots (4 ml) de protéines irradiées et des témoins ont été centrifugés à 27 000 g pendant 30 minutes. Le surnageant des aliquots centrifugés et des aliquots des protéines brutes non centrifugés ont été dosés en protéines en utilisant le kit Bio-Rad. L'indice de solubilité des protéines est alors calculé en utilisant l'équation suivante:

$$\% \text{ solubilité} = \frac{\text{Protéine dans le surnageant}}{\text{Protéine dans l'échantillon non centrifugé}} \times 100$$

2.6 Hydrophobicité des protéines

L'hydrophobicité de surface a été déterminée selon la méthode Kato et al. (1980) à l'aide de l'acide 1-anilino-8-naphtalène sulfonate (ANS) qui est un réactif hydrophobe fluorescent en l'absence de SDS (Sodium dodecyl sulphate). Chaque extrait protéique est dilué en séries avec le tampon de phosphate de sodium de 0.01M (pH = 7) pour obtenir des concentrations

protéiques de 0.025% à 0.1% . Quinze μ l de solution de ANS (8 mM dans 0,02M de phosphate de sodium, pH = 7) fraîchement préparé ont été ajouté à 3 ml de solution protéique. L'intensité fluorimétrique est mesurée avec un spectrophotomètre Varian DMS 200, équipé de l'accessoire de fluorescence totale avec un filtre GC 455, ne laissant passer que les longueurs d'ondes supérieures à 450 nm. L'intensité fluorimétrique relative (IFR) a été mesurée après 5 minutes aux longueurs d'ondes d'excitation de 390 nm et d'émission de 470 nm . La lecture de l'IFR a été standardisée par un ajustement du compteur de l'appareil à 30% de la pleine échelle pour 15 μ l d'ANS dans 3 ml de méthanol. L'IFR nette de chaque solution protéique a été déterminée en faisant la différence entre l'IFR de chaque solution sans ANS et celle avec ANS. La pente initiale (S_0) de l'IFR en fonction de la concentration protéique (%) a été calculée par régression linéaire et utilisée comme indice de l'hydrophobicité protéique.

3. ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

Les échantillons de porc irradié et les témoins ont été entreposés à 4°C par portion de 10 g ,emballés dans des sachets stériles. Les fèves ont été entreposées à l'étuve à 30°C dans des contenants clos stériles traités où l'humidité relative a été maintenue à 85% .

Le dénombrement des différents types de microorganismes, bactéries, moisissures, s'est effectué en duplicata. Pour chaque analyse, 10 g de porc ou de fèves mélangés à 90 ml d'eau peptonée 0.1% (p/v) stérile (Oxoïd, Toronto, Canada) ont été homogénéisés dans un sac stérile de plastique à l'aide d'un appareil stomacher (Osterizer, modèle 648-38, Canada). Les différentes dilutions sériées ont été préparées, toujours en utilisant de l'eau peptonée stérile à 0.1% (p/v), ensuite homogénéisées. Des volumes de 1ml ont été prélevés des dilutions décimale à partir des homogénats précédents et ensemencés sur des milieux de culture appropriés puis incubés à une température pour une durée convenable afin de favoriser la multiplication des microorganismes. Les colonies devenues visibles étaient alors comptées à l'aide du "Quebec Colony Counter" (Darkfield Quebec Colony Counter, modèle 3321, American Optical, Buffalo, USA).

3.1 Dénombrement des bactéries mésophiles et psychotrophes

Les bactéries mésophiles et psychotrophes ont été dénombrées après dispersion de 1 ml de dilution dans la gélose selon la technique ("Pour Plate"). Le milieu de cultures "Plate Count Agar" (PCA) (Oxoïd, Toronto, Canada) a été utilisé pour ces dénombrements. Ce milieu fut préparé et stérilisé selon les indications du fabricant. Les bactéries mésophiles furent dénombrées 48 heures après incubation à 35°C, alors que les

psychotrophes ont été dénombrés après 10 jours d'incubation à 4°C.

3.2 Dénombrement des *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* sont des bactéries aérobiques, réputées pour leur caractère putrifiant de la viande et qui croissent rapidement en surface de la gélose. Afin de faciliter leurs dénombrements, la technique de "Pour Plate" a été utilisée pour éviter leur prolifération rapide sur la gélose. Le milieu de cultures "Pseudomonas Isolation Agar" (PIA) (Oxoid, Toronto, Canada) a été utilisé tel que proposé par le fabricant. De même, la préparation et la stérilisation furent effectuées en accord avec les recommandations du fabricant. Les *Pseudomonas* furent dénombrés après 10 jours d'incubation à 4°C .

3.3 Dénombrement des moisissures

Les moisissures ont été dénombrées par étalement des cellules en surface de la gélose, selon la méthode "Spread Plate". Le milieu de cultures "Potato Dextrose Agar" (PDA) (Difco, Detroit, USA) a été utilisé comme milieu de croissance des moisissures en accord avec le manuel Difco. La préparation et la stérilisation de ce milieu furent effectuées tel que recommandé par le fabricant. Ce milieu, après stérilisation et refroidissement, fut acidifié à

l'aide de l'acide tartrique à pH = 3,5 en ajoutant 1,7 ml par 100 ml d'acide tartrique 10% (p/v) (Anachemia, Montréal, Canada), filtré de façon stérile sur un papier d'acétate de cellulose de 0,45 μm . Le dénombrement des moisissures a été fait après 96 heures d'incubation à 24°C.

3.4 Coloration de Gram

Les colonies représentatives lors des comptes de bactéries mésophiles, psychotrophes et des Pseudomonas ont été isolées et colorées par une coloration de Gram. La coloration a été réalisée sur toutes les colonies isolées en utilisant le kit et la technique proposée par le manuel Difco.

RESULTATS

1. EFFETS DU DEBIT DE DOSES ET DE LA DOSE D'IRRADIATION SUR LES PROPRIETES BIOCHIMIQUES

1.1 Désamidation

Le degré de désamidation , calculé à partir des variations du contenu en ammoniacque dans les échantillons irradiés aux différentes doses et débits de doses, et le témoin, tel que défini par Winton et Winton (1945), a permis d'apprécier l'effet de l'irradiation sur les protéines de porc et de fèves. Les résultats qui sont présentés aux Tableaux 3.1, 3.2 et illustrés aux Figures 3.1, 3.2 , montre bien une augmentation du degré de désamidation en fonction des doses d'irradiation. Cependant, au débit de doses 4.4 kGy/h, une désamidation optimale a été obtenue à 4 kGy tant pour le porc que pour les fèves. Une comparaison des résultats des deux figures permet de voir que l'irradiation a eu significativement ($p \leq 0.05$) plus d'effet sur le porc que sur les fèves. Le degré de désamidation des protéines de porc traité à 8 kGy était de 98% et 64% respectivement aux débits de doses de 38.1 kGy/h et 4.4 kGy/h comparativement aux fèves où le degré de désamidation était de 65% et 48% aux mêmes doses et débits de doses. Les résultats obtenus aux tableaux 3.1 et 3.2 montrent que chez le porc, les protéines sont traitées à un débit de doses de 38.1 kGy/h, il y a une augmentation significative ($p \leq 0.05$) du degré de désamidation en fonction de la dose d'irradiation. A 4.4 kGy/h, on observe une augmentation significative du degré de désamidation lorsque la

protéine est traitée à 4 kGy comparativement à 2 kGy. Cependant le degré de désamidation demeure le même, même en augmentant la dose d'irradiation à 8 kGy. Pour une même dose d'irradiation, on note toutefois que chez le porc traité à 38.1 kGy/h le degré de désamidation est significativement plus élevé que le produit à 4.4 kGy/h. Dans le cas des fèves, cette augmentation significative ($p \leq 0.05$) a été obtenue aux doses de 2 et 8 kGy. A 4.4 kGy/h, pour le produit traité à 4 kGy, la désamidation est significativement plus élevée qu'à 38 kGy/h.

Tableau 3.1: Effets de la dose et du débit de doses sur la désamidation (%) des protéines de porc irradié

désamidation du porc (1)			
Débits de doses (kGy/h)	Doses d'irradiation (kGy)		
	2	4	8
38.1	64.00±0.07a ²	77.78±0.04a	98.22±0.07b
4.4	46.00±0.05a	64.33±0.06b	64.00±0.16b

1 n = 3

2 Analyses statistiques comparant les doses d'irradiation. Les valeurs moyennes de chaque rangée ayant une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p \geq 0.05$).

Figure 3.1: Effets de la dose et du débit de doses d'irradiation sur la désamidation de protéines de porc

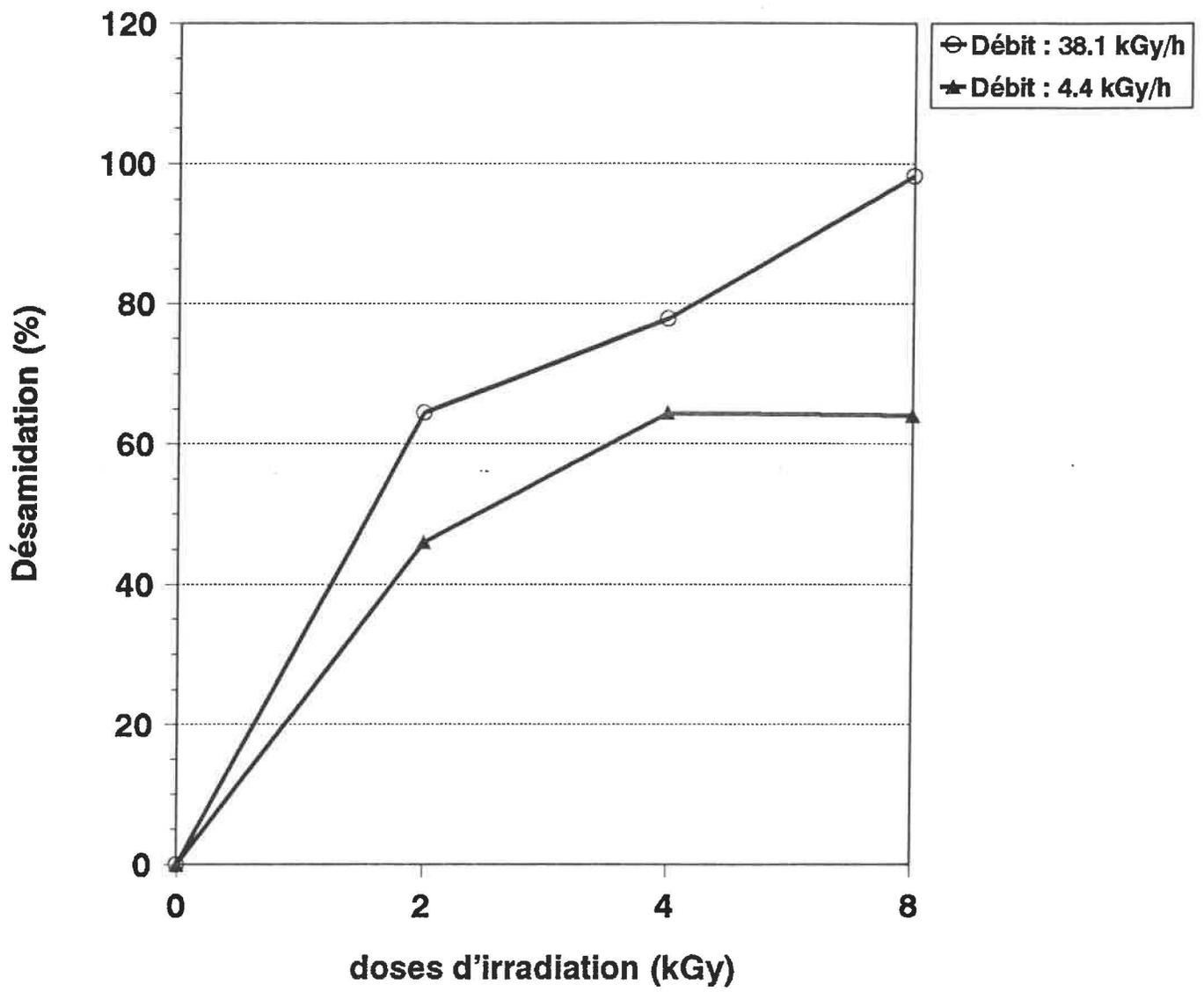


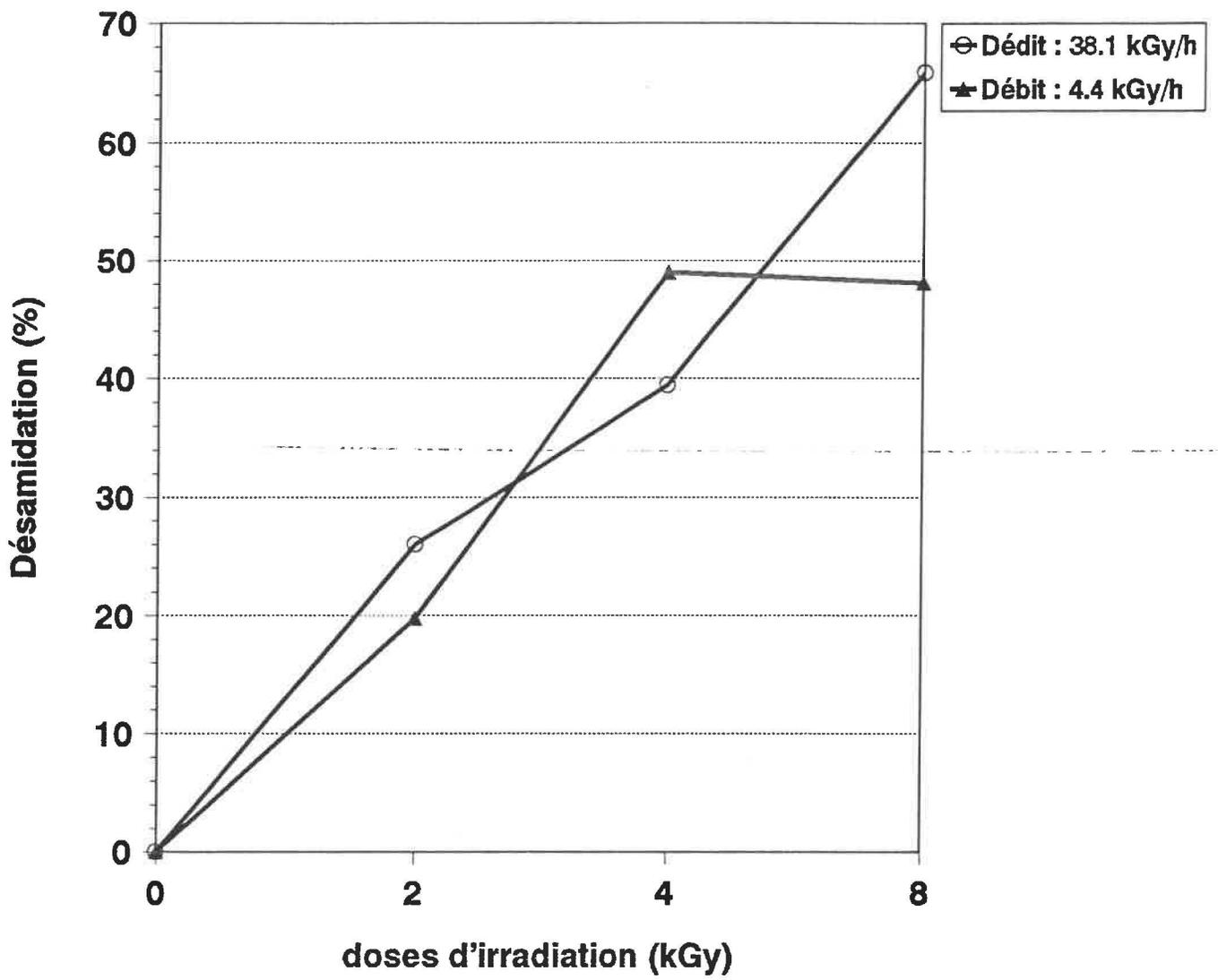
Tableau 3.2: Effets de la dose et du débit de doses sur la désamidation (%) des protéines de fèves légumineuses (*Vigna unguiculata*) irradiées

désamidation des fèves (1)			
Débits de doses (kGy/h)	Doses d'irradiation (kGy)		
	2	4	8
38.1	26.00±0.04a ²	39.44±0.04b	65.89±0.05c
4.4	19.78±0.03a	49.00±0.03b	48.11±0.06b

1 n = 3

2 Analyses statistiques comparant les doses d'irradiation. Les valeurs moyennes de chaque rangée ayant une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p \geq 0.05$).

Figure 3.2: Effets de la dose et du débit de doses d'irradiation sur la désamidation des protéines de fèves légumineuses (*Vigna unguiculata*)



1.2 Désulfuration

Les courbes des SH disponibles en fonction des doses d'irradiation du porc à 38.1 et à 4.4 kGy/h montrent qu'il y a une diminution du contenu en SH disponibles en fonction de l'augmentation de la dose jusqu'à 4 kGy après quoi, on note une augmentation du contenu en SH disponibles lorsque le porc est traité à 8 kGy (Tableau 3.3 et Figure 3.3). Les valeurs enregistrées à 38.1 kGy/h sont significativement ($p \leq 0.05$) supérieures à celles obtenues à 4.4 kGy/h. Les doses 2 kGy et 4 kGy ont induit une diminution des SH disponibles, alors qu'à la dose 8 kGy, on observe une légère augmentation. Au débit de doses de 38.1 kGy/h, les variations des SH disponibles, suite aux doses utilisées, n'ont aucune différence significative ($p \geq 0.05$). Par contre, à 4.4 kGy/h on note une différence significative ($p \leq 0.05$) entre les produits traités à 4 et à 8 kGy.

Dans le cas des fèves, on a une décroissance des SH disponibles en fonction des doses utilisées à 38.1 et à 4.4 kGy/h comme l'indique les résultats du Tableau 3.4 et la Figure 3.4. Les résultats à 38.1 kGy/h, demeurent significativement ($p \leq 0.05$) supérieurs à ceux observés à 4.4 kGy/h. A 38.1 kGy/h, les variations des SH sont toutes significativement ($p \leq 0.05$) différentes entre elles sauf entre 0 kGy et 2 kGy. Alors qu'à 4.4 kGy/h, la désulfuration à 0 kGy et à 2 kGy ont une différence significative ($p \leq 0.05$) mais varie peu entre 4 kGy et 8 kGy.

Tableau 3.3: Effets de la dose et du débit de doses sur les groupements sulfhydryles SH disponibles ($\mu\text{M/g}$) des protéines de porc irradié

SH disponibles de porc (1)				
Débits de doses (kGy/h)	Doses d'irradiation (kGy)			
	0	2	4	8
38.1	23.9 \pm 3.5a ²	21.1 \pm 2.8a	21.9 \pm 3.8a	26.5 \pm 5.4a
4.4	68.1 \pm 2.4a	65.4 \pm 1.6a	54.5 \pm 1.2b	59.7 \pm 1.4c

1 n = 3

2 Analyses statistiques comparant les doses d'irradiation. Les valeurs moyennes de chaque rangée ayant une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p \geq 0.05$).

Figure 3.3: Effets de la dose et du débit de doses d'irradiation sur les groupements sulfhydriles SH disponibles de protéines de porc

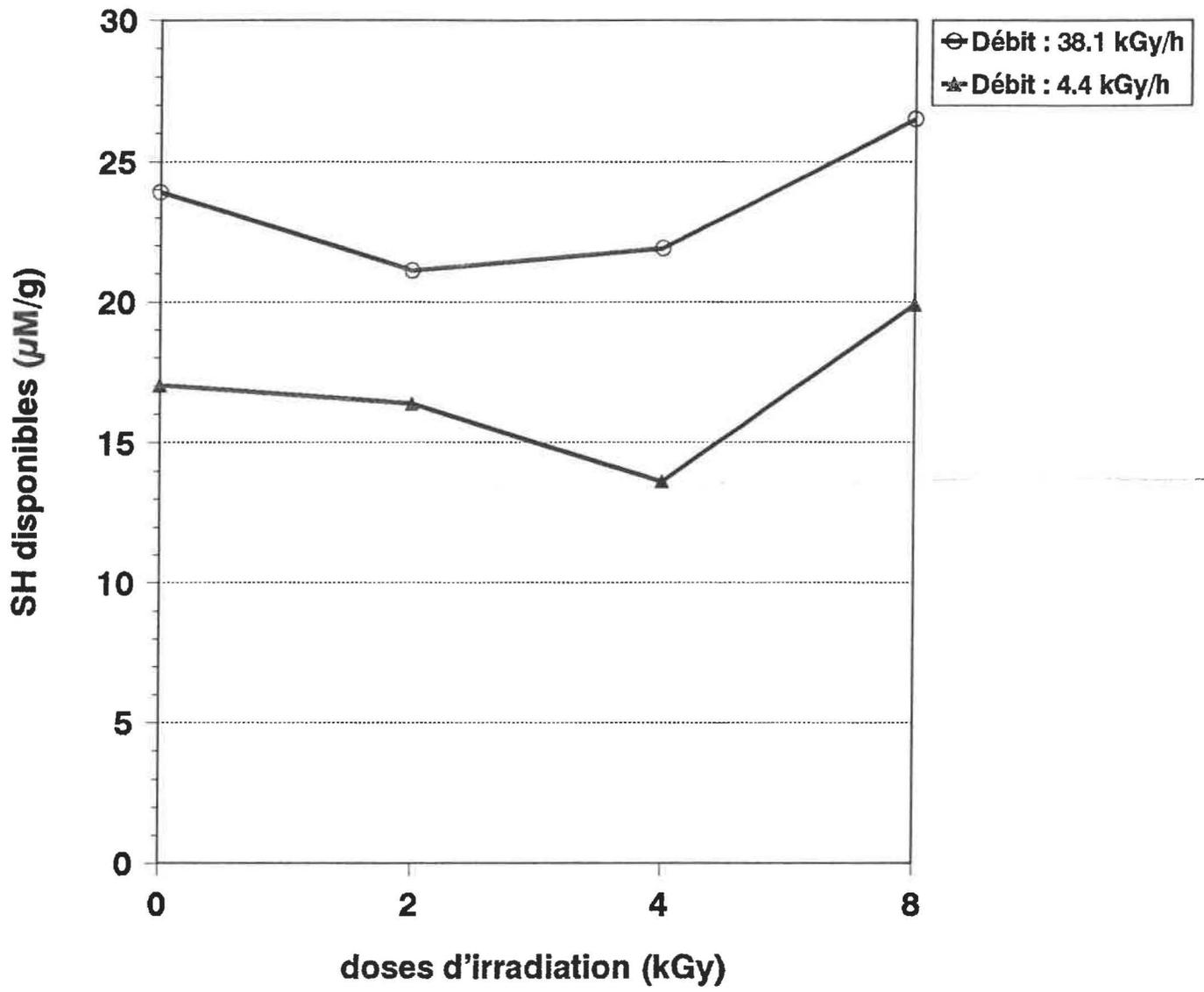


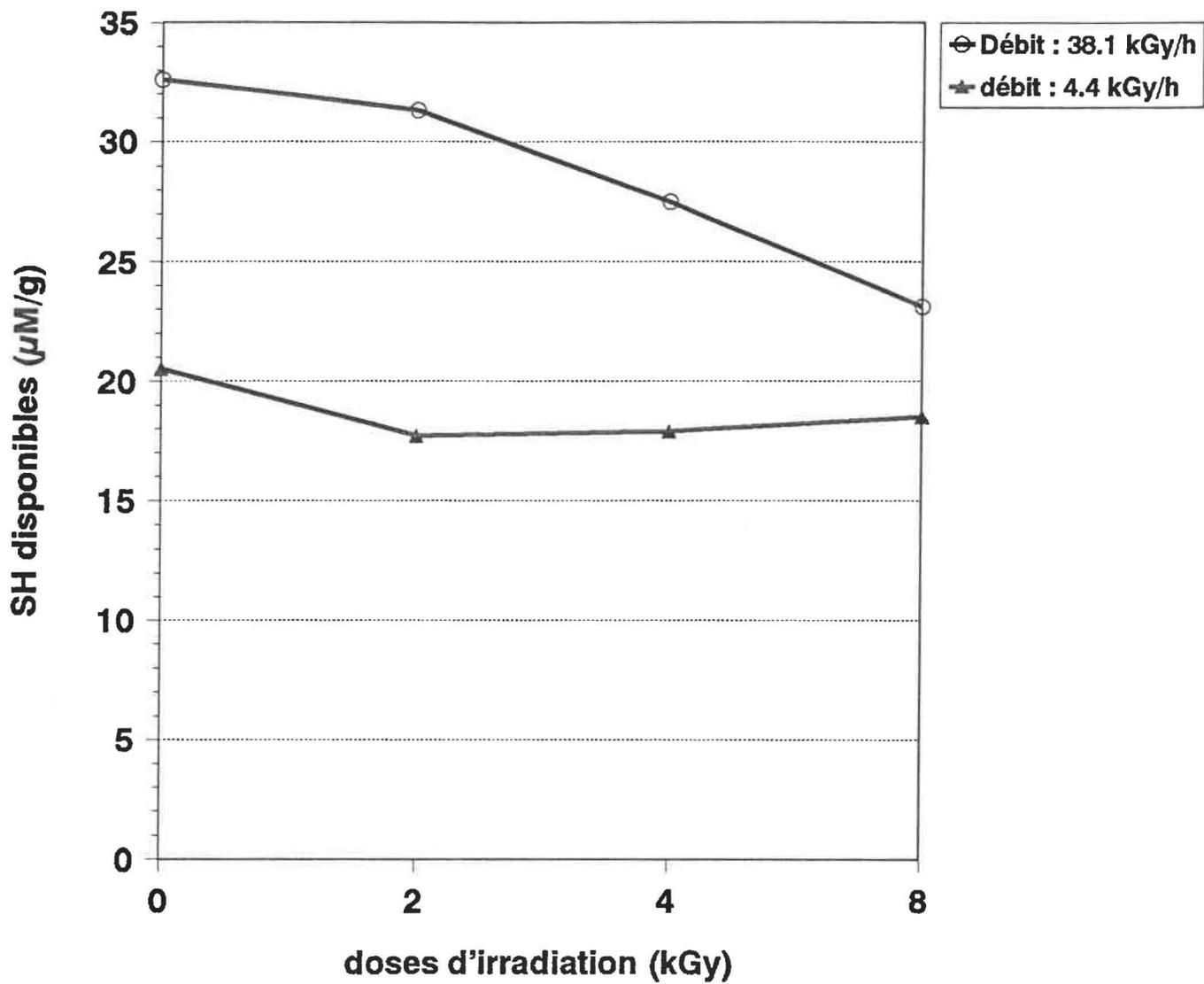
Tableau 3.4: Effets de la dose et du débit de doses sur les groupements sulfhydryles SH disponibles ($\mu\text{M/g}$) des protéines de fèves irradiées

SH disponibles dans les fèves (1)				
Débits de doses (kGy/h)	Doses d'irradiation (kGy)			
	0	2	4	8
38.1	32.6 \pm 0.6a ²	31.3 \pm 0.2a	27.5 \pm 2.3b	23.1 \pm 0.2c
4.4	20.5 \pm 0.8a	17.7 \pm 0.5b	17.9 \pm 1.5b	18.5 \pm 1.4ab

1 n = 3

2 Analyses statistiques comparant les doses d'irradiation. Les valeurs moyennes de chaque rangée ayant une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p \geq 0.05$).

Figure 3.4: Effets de la dose et du débit de doses
d'irradiation sur les groupements sulfhydryles
SH disponibles des protéines de fèves
légumineuses (*Vigna unguiculata*)



1.3 Solubilité

L'irradiation a eu très peu d'effets sur l'indice de solubilité des protéines de porc. A 38.1 kGy/h , la solubilité des échantillons a très peu varié par rapport aux témoins sauf à 8 kGy, où elle est significativement ($p \leq 0.05$) supérieure au témoin (Tableau 3.5 et Figure 3.5). On observe la même tendance pour les échantillons irradiés à 4,4 kGy/h , où les différentes doses n'ont pas pu induire une variation de la solubilité qui demeure presque stationnaire sauf à 2 kGy, où on note, une variation négative. Cependant à 38.1 kGy/h , la solubilité aux doses 2, 4, et 8 kGy sont significativement ($p \leq 0.05$) différentes pour les même doses respectives à 4.4 kGy/h.

Dans le cas des fèves, l'effet de l'irradiation sur la solubilité des protéines a été également très peu marqué (Tableau 3.6 et Figure 3.6), mais à 38.1 kGy/h on a obtenu une augmentation significative de l'indice de solubilité. Les différences entre les variations de solubilité aux deux différents débits de doses (38.1 kGy/h et 4.4 kGy/h) ne sont significatives que pour les doses 4 et 8 kGy.

Tableau 3.5: Effets de la dose et du débit de doses sur la solubilité (%) des protéines de porc irradié

Solubilité du porc (1)				
Débits de doses (kGy/h)	Doses d'irradiation (kGy)			
	0	2	4	8
38.1	84.1±2.4a²	89.3±1.3b	88.6±2.2b	91.1±3.0b
4.4	77.3±1.4a	61.4±2.0b	78.2±2.0a	77.7±2.5a

1 n = 3

2 Analyses statistiques comparant les doses d'irradiation. Les valeurs moyennes de chaque rangée ayant une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p \geq 0.05$).

**Figure 3.5: Effets de la dose et du débit de doses
d'irradiation sur la solubilité des protéines
de porc**

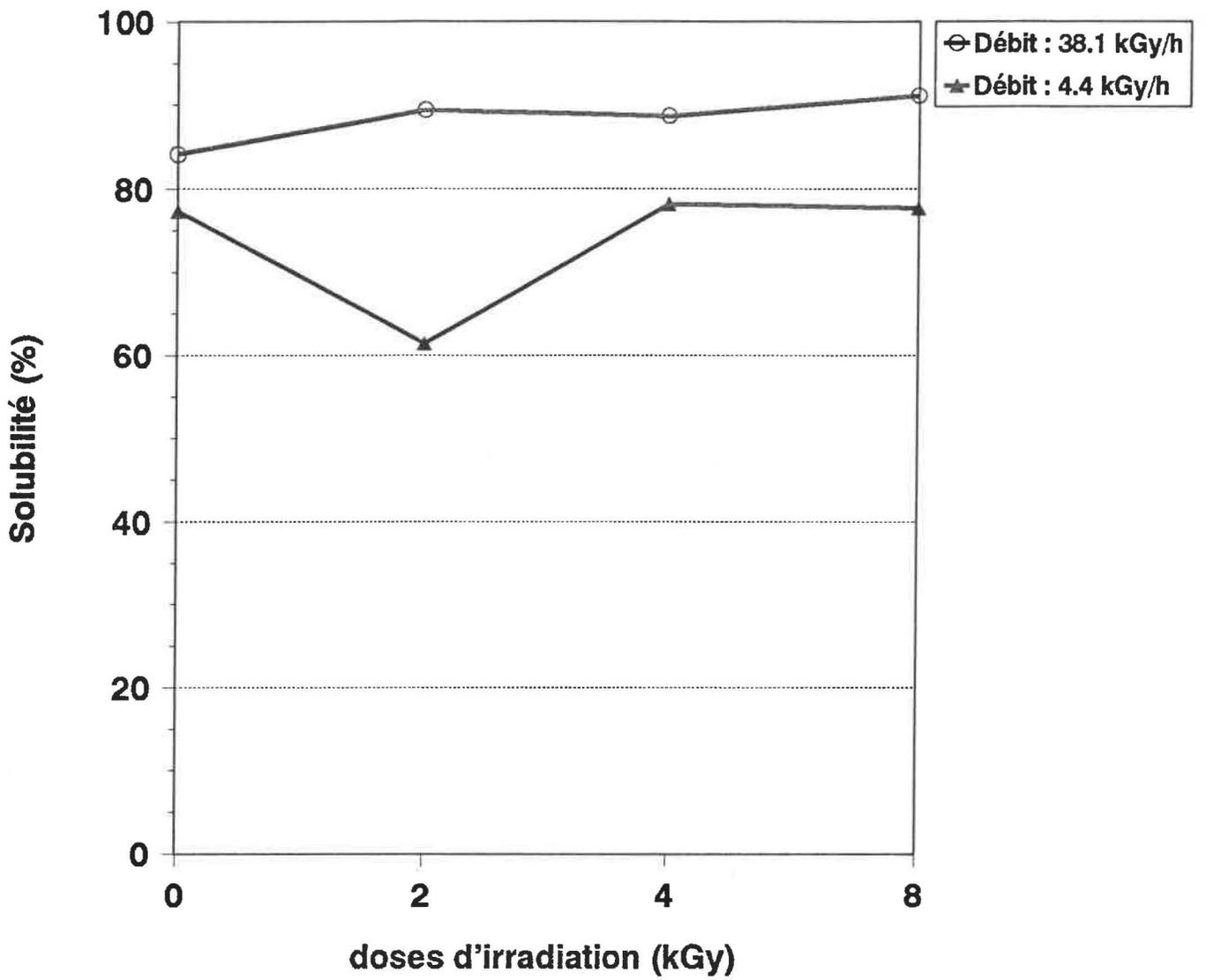


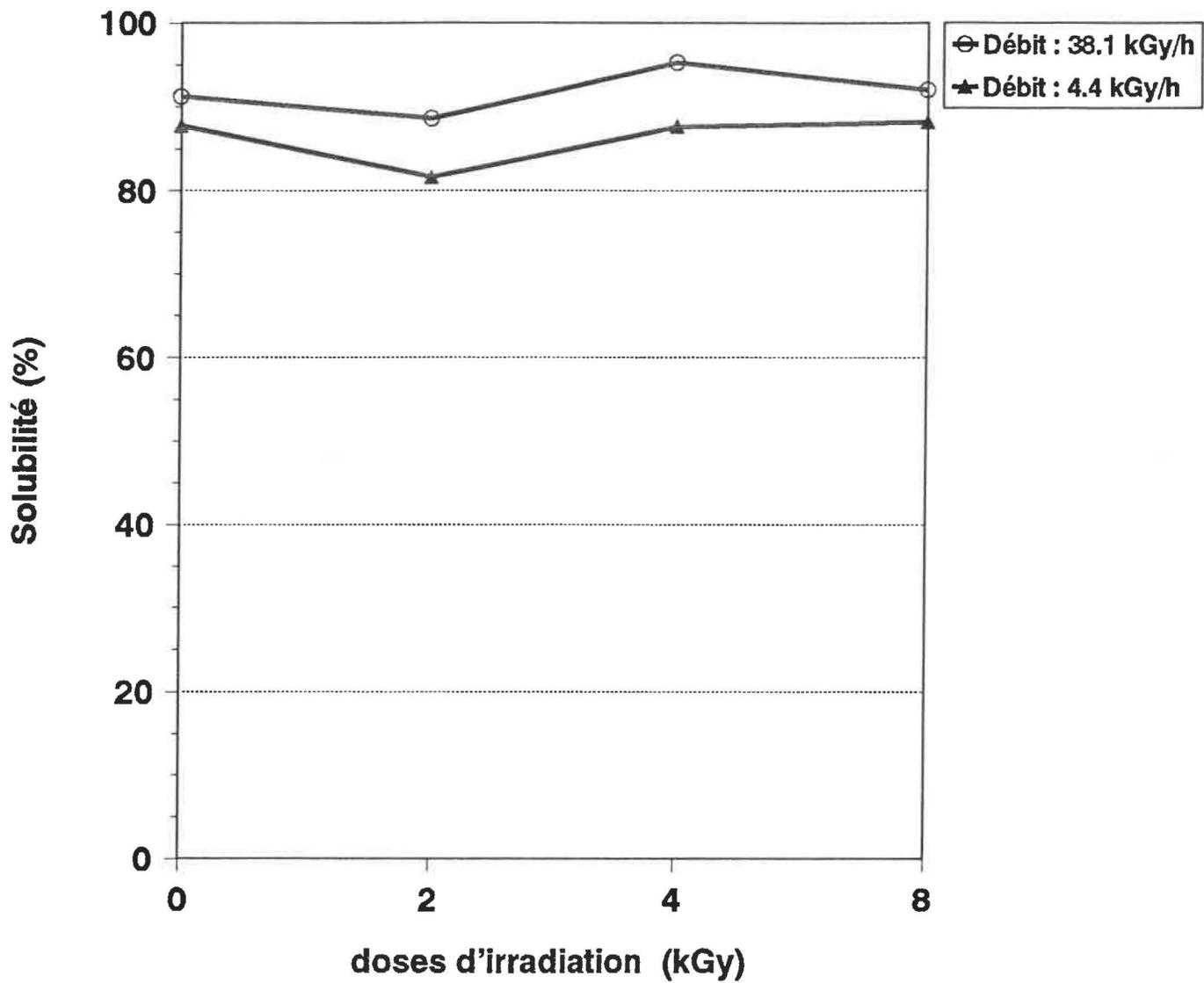
Tableau 3.6: Effets de la dose et du débit de doses sur la solubilité (%) des protéines de fèves irradiées

Solubilité des fèves (1)				
Débits de doses (kGy/h)	Doses d'irradiation (kGy)			
	0	2	4	8
38.1	91.2±4.1a²	88.6±1.4a	95.3±2.4b	92.0±0.9ab
4.4	87.7±2.6a	81.6±4.5b	87.6±2.6a	88.2±1.4a

1 n = 3

2 Analyses statistiques comparant les doses d'irradiation. Les valeurs moyennes de chaque rangée ayant une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p \geq 0.05$).

Figure 3.6: Effets de la dose et du débit de doses d'irradiation sur la solubilité de protéines de fèves légumineuses (*Vigna unguiculata*)



1.4 Hydrophobicité

L'hydrophobicité des échantillons de porc traités à 4.4 kGy/h, a montré une variation positive alors que des échantillons traités à 38.1 kGy/h, montre une variation négative avec l'augmentation de la dose. Les échantillons traités à 4 kGy/h sont significativement ($p \leq 0.05$) plus hydrophobes que les témoins (Tableau 3.7 et Figure 3.7). Entre les doses d'irradiation il n'y a cependant aucune différence significative ($p \leq 0.05$). Les échantillons traités à 38.1 kGy/h à 2 et 4 kGy ne sont pas significativement ($p \leq 0.05$) plus élevés que les témoins. Par contre, seuls les échantillons traités à 8 kGy sont significativement ($p \leq 0.05$) que le témoin.

Les résultats des fèves montre que dans l'ensemble l'irradiation augmente significativement l'hydrophobicité aux doses utilisées aux débits de doses de 38.1 kGy/h, cependant aucune différence significative ($p \leq 0.05$) n'a été observée (Tableau 3.8 et Figure 3.8). A 4.4 kGy/h, on note que les variations sont d'abord négatives de 0 à 4 kGy avant de remonter à 8 kGy les variations sont d'abord négatives puis, remontent à 8 kGy: chez ces échantillons, l'ensemble des irradiés ont tous une différence significative ($p \leq 0.05$) par rapport aux témoins, mais ne présentent aucune différence entre les différentes doses successives.

Tableau 3.7: Effets de la dose et du débit de doses sur l'hydrophobicité des protéines de porc irradié

Hydrophobicité du porc (1)				
Débits de doses (kGy/h)	Doses d'irradiation (kGy)			
	0	2	4	8
38.1	13.1±0.2a ²	12.05±0.5ab	12.4±0.2ab	10.8±0.3b
4.4	3.3±0.1a	3.9±0.6b	4.4±0.2b	4.8±0.2b

1 n = 3

2 Analyses statistiques comparant les doses d'irradiation. Les valeurs moyennes de chaque rangée ayant une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p \geq 0.05$).

Figure 3.7: Effets de la dose et du débit de doses d'irradiation sur l'hydrophobicité de surface des protéines de porc

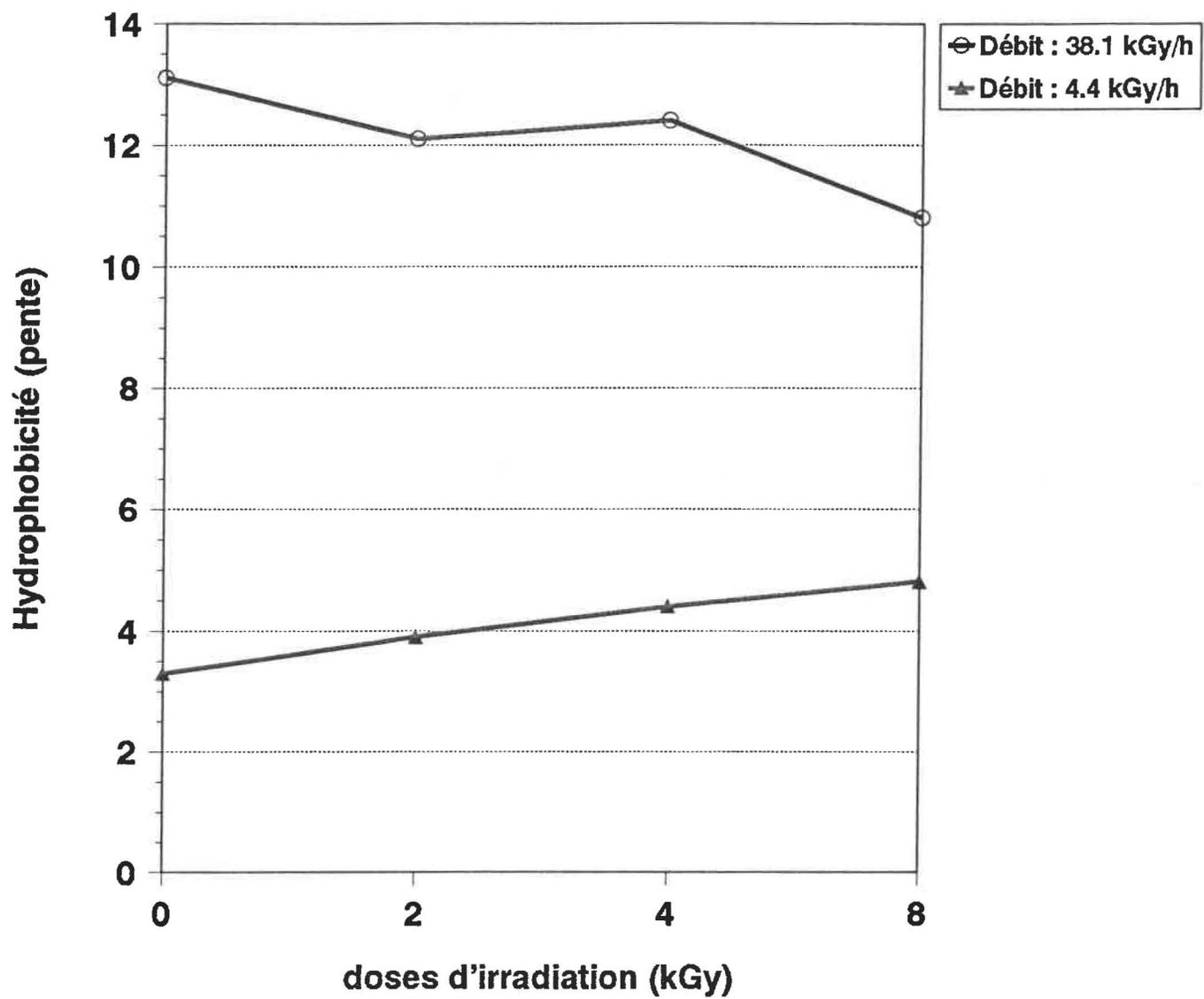


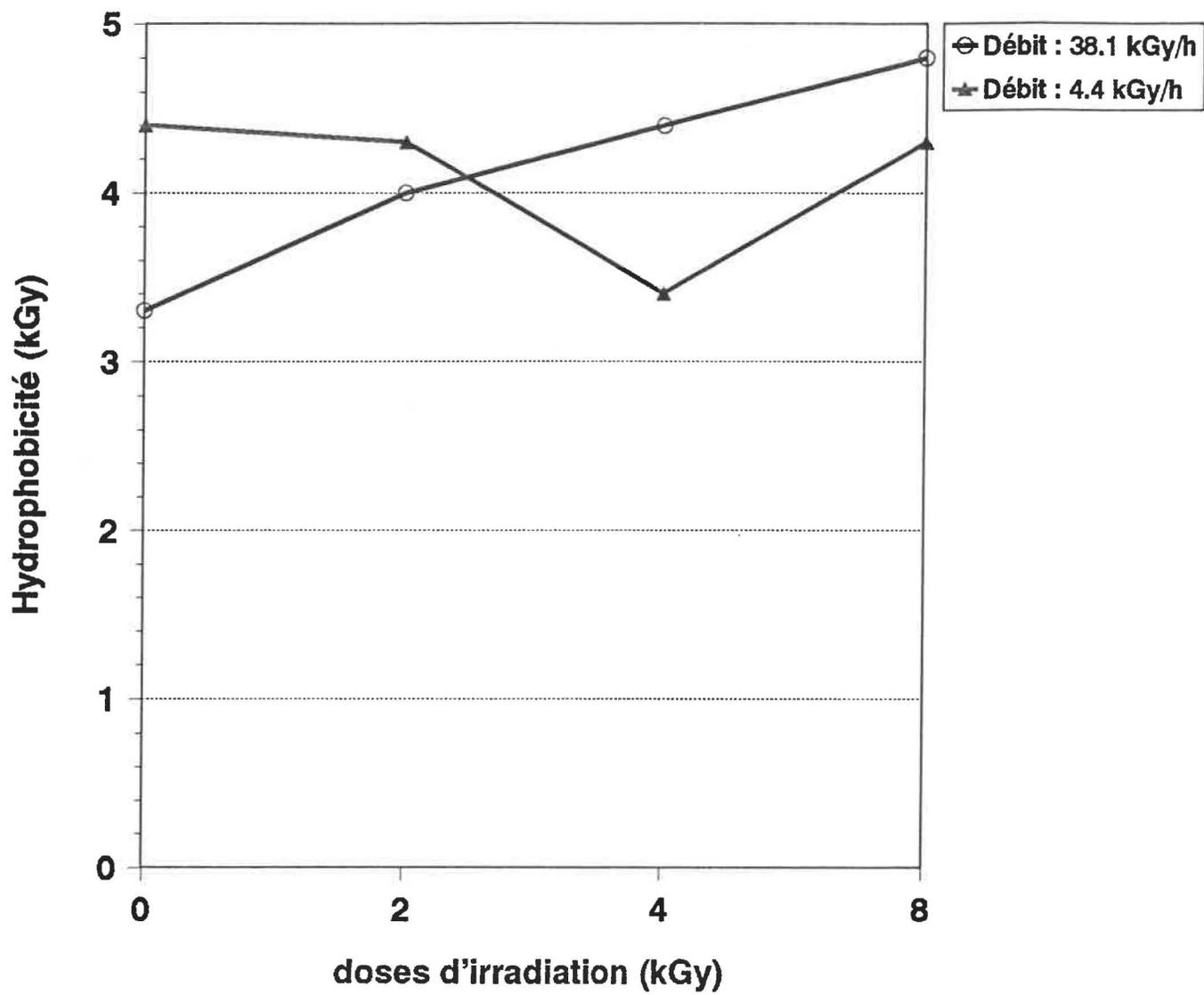
Tableau 3.8: Effets de la dose et du débit de doses sur l'hydrophobicité des protéines de fèves irradiées

Hydrophobicité des fèves (1)				
Débits de doses (kGy/h)	Doses d'irradiation (kGy)			
	0	2	4	8
38.1	3.3±0.1a²	4.0±0.6b	4.4±0.2b	4.8±0.2b
4.4	4.4±0.0a	4.3±0.2a	3.4±0.3a	4.3±0.2a

1 n = 3

2 Analyses statistiques comparant les doses d'irradiation. Les valeurs moyennes de chaque rangée ayant une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p \geq 0.05$).

Figure 3.8: Effets de la dose et du débit de doses d'irradiation sur l'hydrophobicité de protéines de fèves légumineuses (*Vigna unguiculata*)



2. ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

2.1 Dénombrement des mésophiles sur le porc irradié à 1 kGy

La croissance des mésophiles au cours de l'entreposage est représentée au Tableau 3.9 et à la Figure 3.9. Cette figure montre bien que pour le témoin comme pour les échantillons irradiés à 1 kGy, il y a eu une croissance des mésophiles au cours de l'entreposage. Au jour zéro, la quantité de mésophiles chez le témoin et l'irradié était respectivement à 2.3 et 1.8 unités formatrices de colonies (Log UFC/g). Dès le sixième jour, alors que le porc irradié était encore de bonne qualité, i.e la quantité de bactéries comptées n'était que de 4.4 UFC, sur le contrôle on comptait déjà 7.1 UFC : la limite acceptable étant 6 UFC. A la fin de l'entreposage (jour 15), lorsque le contrôle comptait 7.7 UFC, l'irradié comptait exactement 6.6 UFC .

2.2 Dénombrement des mésophiles sur le porc irradié à 3 kGy

Les résultats du compte sur les échantillons irradiés à 3 kGy sont présentés sur le Tableau 3.9 et la Figure 3.10 . Cette figure montre que dès le jour zéro, les bactéries mésophiles du témoin étaient presque déjà au milieu de leur phase exponentielle (4.0 UFC) alors que l'irradié ne comptait que 0.7 UFC. Après six jours d'entreposage, le témoin n'était plus acceptable et comptait déjà 7.8 UFC alors que l'irradié n'avait que 3.8 UFC . Ce n'est qu'au quinzième jour d'entreposage, que l'irradié arrivait à 6.0 UFC alors que la croissance sur le contrôle était en phases exponentielle entre les jours 0 et 3.

Les bactéries isolées à partir des colonies dénombrées sur le porc irradié à 1 kGy et à 3 kGy et le contrôle ont montré que ces bactéries sont majoritairement de coloration Gram négative.

Tableau 3.9: Effets de l'irradiation sur l'évolution (Log UFC/g) des flores de Pseudomonas, de bactéries psychotrophes et mésophiles de porc entreposé à 4°C

Durée d'entreposage (Jours)	0	3	6	9	15	0	3	6	9	15
Doses (kGy)	0					1				
Pseudomonas	2.8	3.7	8.0	9.2	9.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
Psychotrophes	3.3	3.9	7.7	9.0	9.8	0.7	2.8	4.8	6.1	4.3
Mésophiles	2.3	2.6	7.1	7.2	7.7	1.8	2.3	4.4	5.2	6.6
Doses (kGy)	0					3				
Pseudomonas	5.8	7.9	8.7	8.6	8.8	0.7	0.7	0.7	0.7	6.7
Psychotrophes	6.2	8.8	8.9	8.8	9.9	0.7	0.7	0.7	5.5	6.7
Mésophiles	4.0	7.4	7.8	7.2	4.4	0.7	0.7	3.8	4.7	6.0

Figure 3.9: Comparaison de la croissance de mésophiles sur le porc traité à 1 kGy et le porc sans traitement d'irradiation

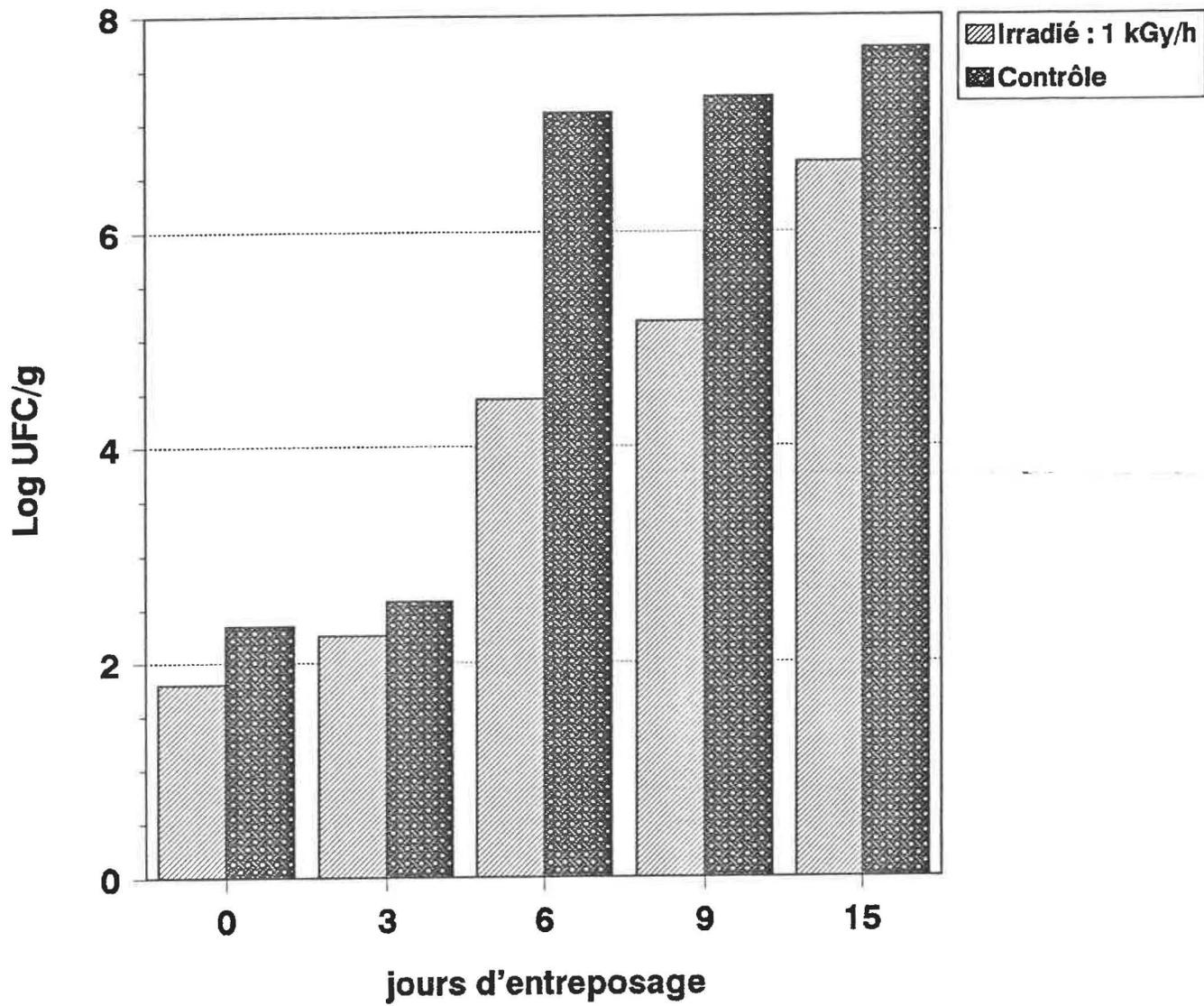
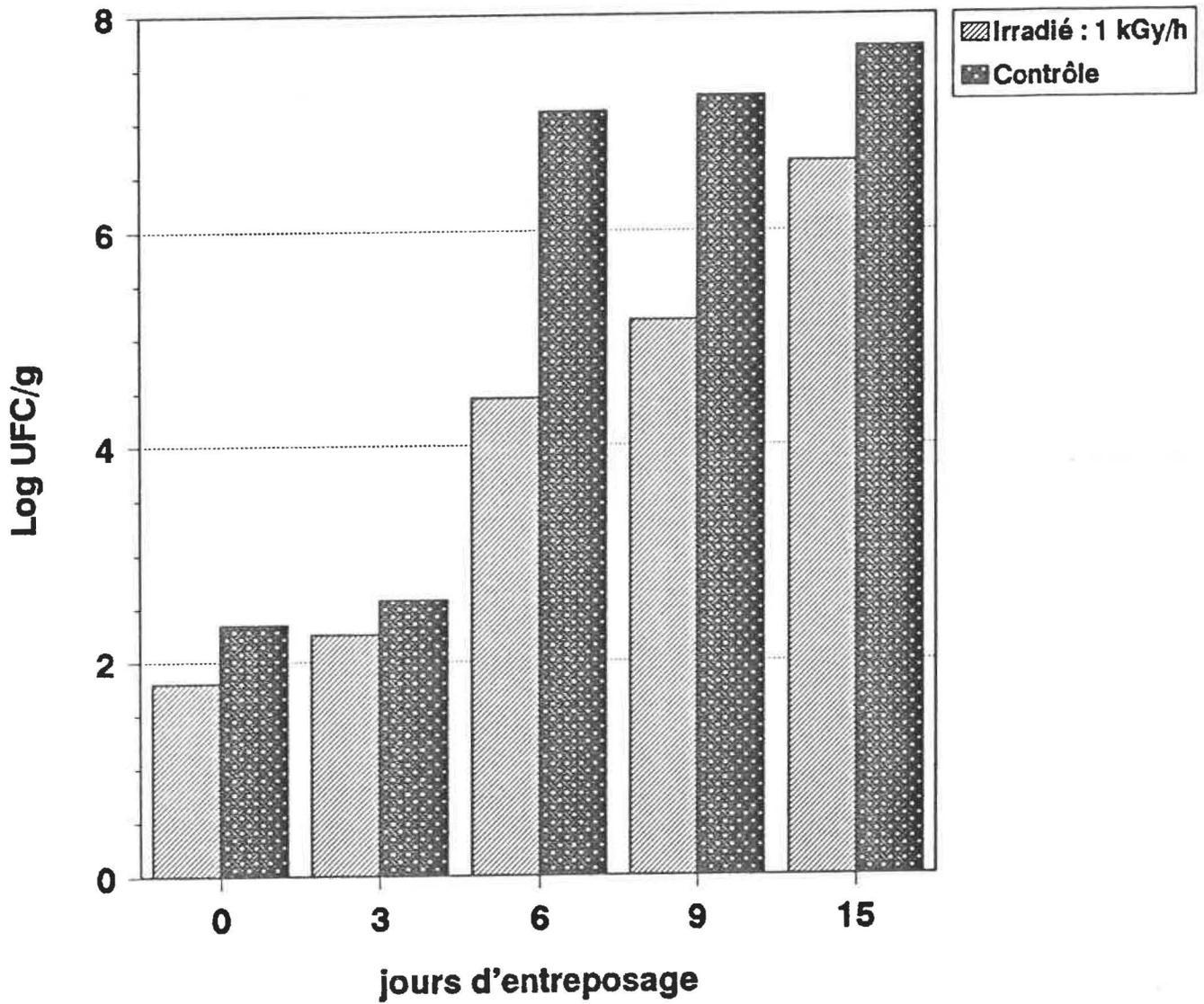


Figure 3.10: Comparaison de la croissance de mésophiles sur le porc traité à 3 kGy et le porc sans traitement d'irradiation



2.3 Dénombrement des psychotrophes sur le porc irradié à 1 kGy

Les résultats apparaissent au Tableau 3.9 et à la Figure 3.11. Au jour zéro, le nombre d'unité formatrice de colonies sur le porc témoin et l'irradié était respectivement 3.3 et 0.7 kGy .

Dès le jour 6, le témoin n'était plus acceptable (7.7 UFC) alors l'irradié ne présentait que 4.8 UFC . Cependant, la vitesse de croissance des organismes a beaucoup baissé après le sixième jour et au quinzième jour, lorsque le témoin avait 9.8 UFC l'irradié n'en avait que 4.3 UFC .

Une coloration de Gram des colonies isolées a démontré que la population est majoritairement Gram négative.

2.4 Dénombrement des psychotrophes sur le porc irradié à 3 kGy

Le dénombrement des psychotrophes sur le porc irradié et le témoin au cours de l'entreposage, sont représentés sur le Tableau 3.9 et la Figure 3.12 . Dès le jour zéro, le compte des psychotrophes sur le témoin (6.2 UFC) était déjà très élevé alors que sur les échantillons irradiés, on dénombrait presque rien (0.7 UFC): la quasi absence des colonies sur les échantillons irradiés à 3 kGy indique bien l'efficacité de cette dose en ce qui concerne l'élimination des psychotrophes sur le porc. Dès le troisième jour d'entreposage, la vitesse de croissance des colonies chez le témoin a diminué énormément pour devenir stationnaire vers la fin de l'entreposage. Au sixième jour d'entreposage, on comptait toujours que quelque colonies sur le porc irradié: les colonies

n'apparaissant qu'à partir du jour 9 d'entreposage (5.5 UFC). Cependant jusqu'au jour 15, seulement 6.7 UFC ont pu être comptées sur le porc irradié à 3 kGy: ce qui démontre bien la possibilité de conservation jusqu' à une semaine au moins du porc irradié à 3 kGy. Ici de même, les colorations de Gram ont révélé la présence majoritaire des bactéries Gram négatives.

Figure 3.11: Comparaison de la croissance de psychotrophes sur le porc traité à 1 kGy et le porc sans traitement d'irradiation

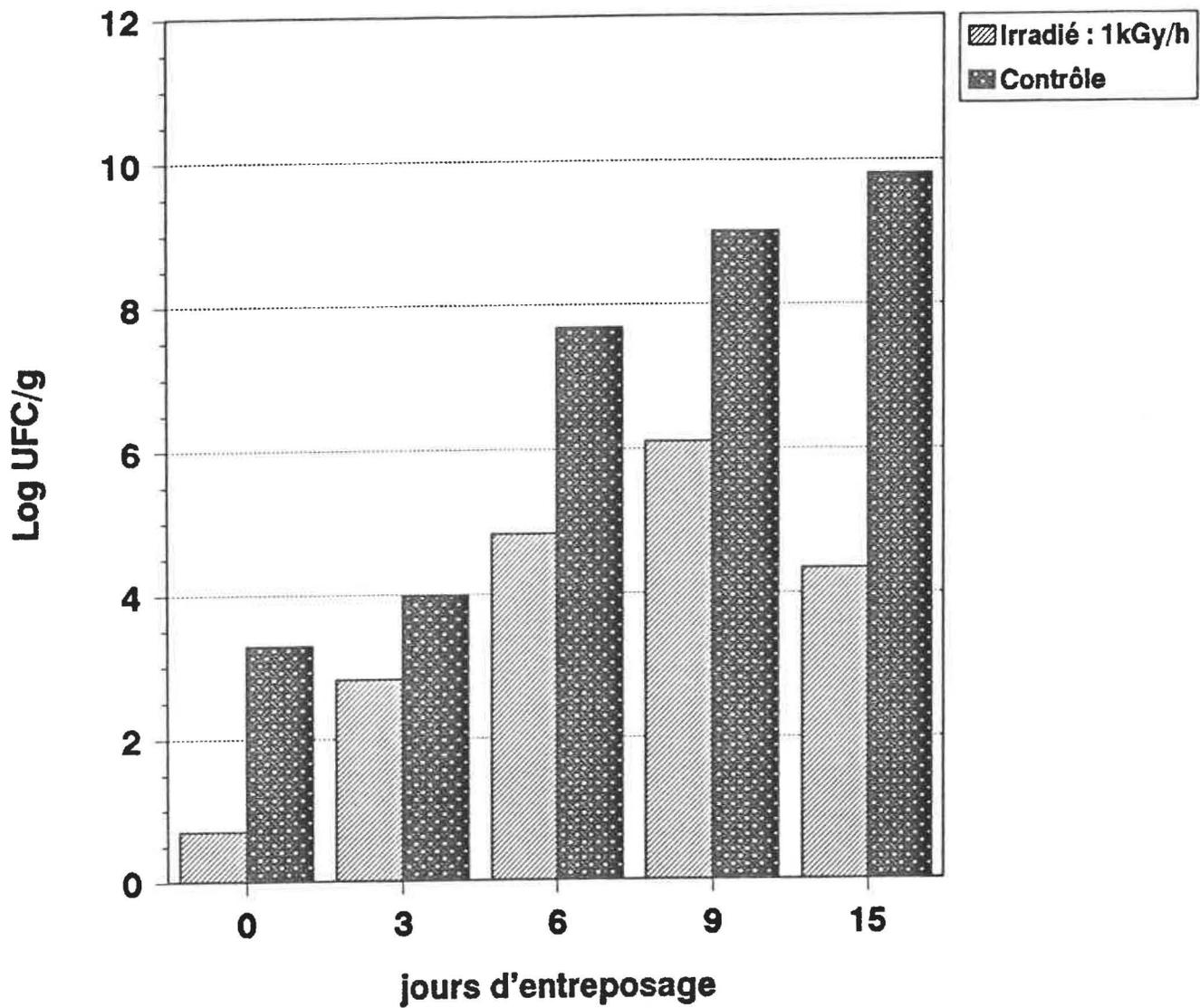
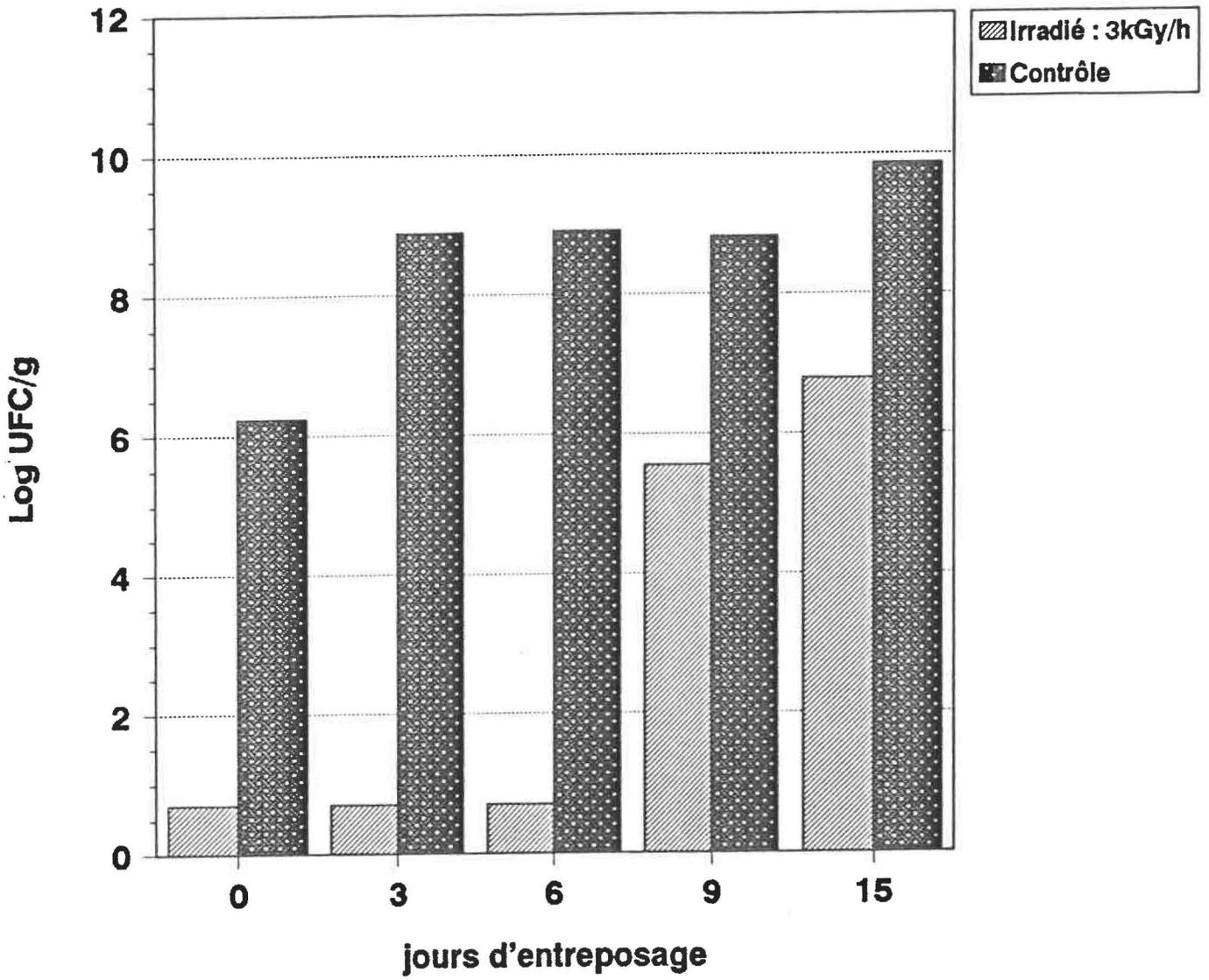


Figure 3.12: Comparaison de la croissance de psychotrophes sur le porc traité à 3 kGy et le porc sans traitement d'irradiation



2.5 Dénombrement des *Pseudomonas*

Le dénombrement des *Pseudomonas* dans le porc irradié et le témoin au cours de l'entreposage sont représentés au Tableau 3.9 et illustré par les Figures 3.13 et 3.14 . Une comparaison des deux figures montre une disparition statistique complète des *Pseudomonas* à l'application des doses 1 kGy et 3 kGy . Ce qui illustre bien, que 1 kGy est largement suffisant pour faire disparaître complètement les *Pseudomonas* sur le porc entreposé à 4°C. A l'opposé des irradiés, la flore de *Pseudomonas* était présente sur les témoins dès le jour zéro, avec une forte croissance jusqu'au jour 6, avant de se ralentir vers la fin de l'entreposage.

Une coloration de Gram a confirmé que les *Pseudomonas* comptées sont exclusivement Gram négative.

2.6 Dénombrement des moisissures sur les fèves entreposées

Le dénombrement des moisissures sur les fèves entreposées est représenté sur le Tableau 3.10 et la Figure 3.15 . Cette figure nous présente l'évolution de la flore des moisissures des fèves irradiées respectivement à 0 kGy , 1.5 kGy et à 3 kGy. Au jour zéro, le dénombrement des moisissures a montré que le témoin avait plus de moisissures (3.06 UFC) que les irradiés à 1.5 kGy (0.9 UFC) et à 3 kGy (1.6 UFC).

Figure 3.13: Comparaison de la croissance de *Pseudomonas* sur le porc traité à 1 kGy et le porc sans traitement d'irradiation

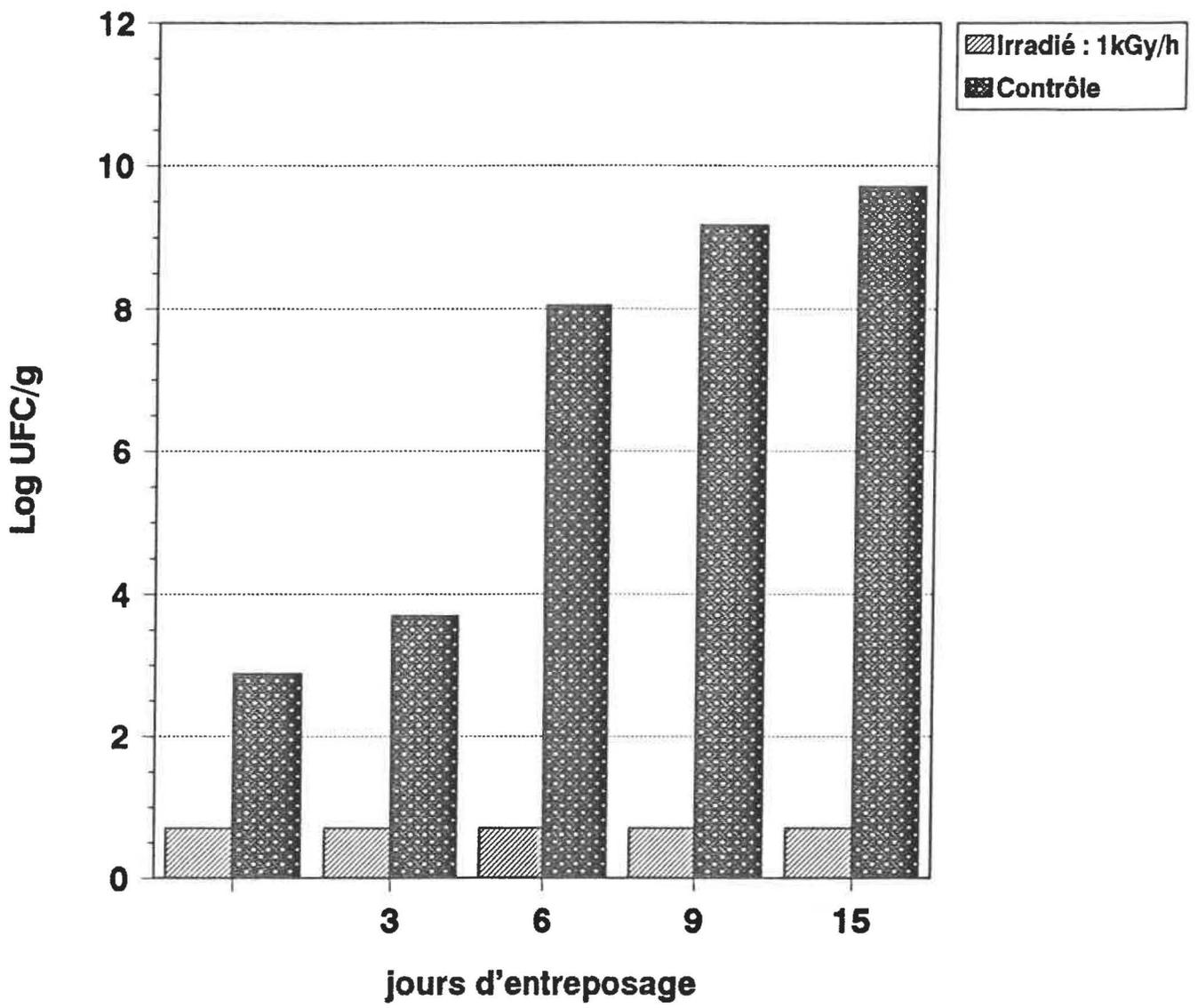


Figure 3.14: Comparaison de la croissance de *Pseudomonas* sur le porc traité à 3 kGy et le porc sans traitement d'irradiation

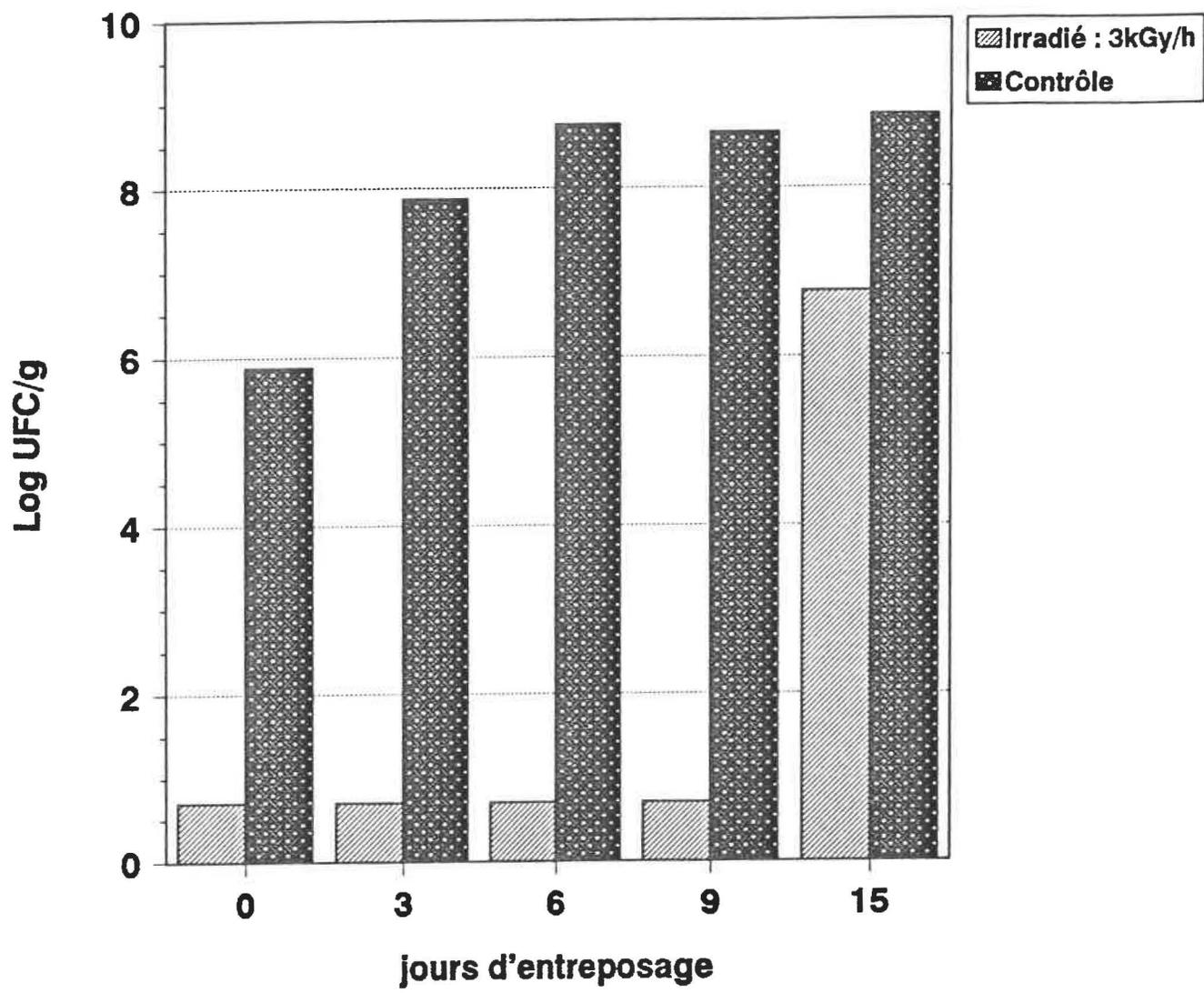
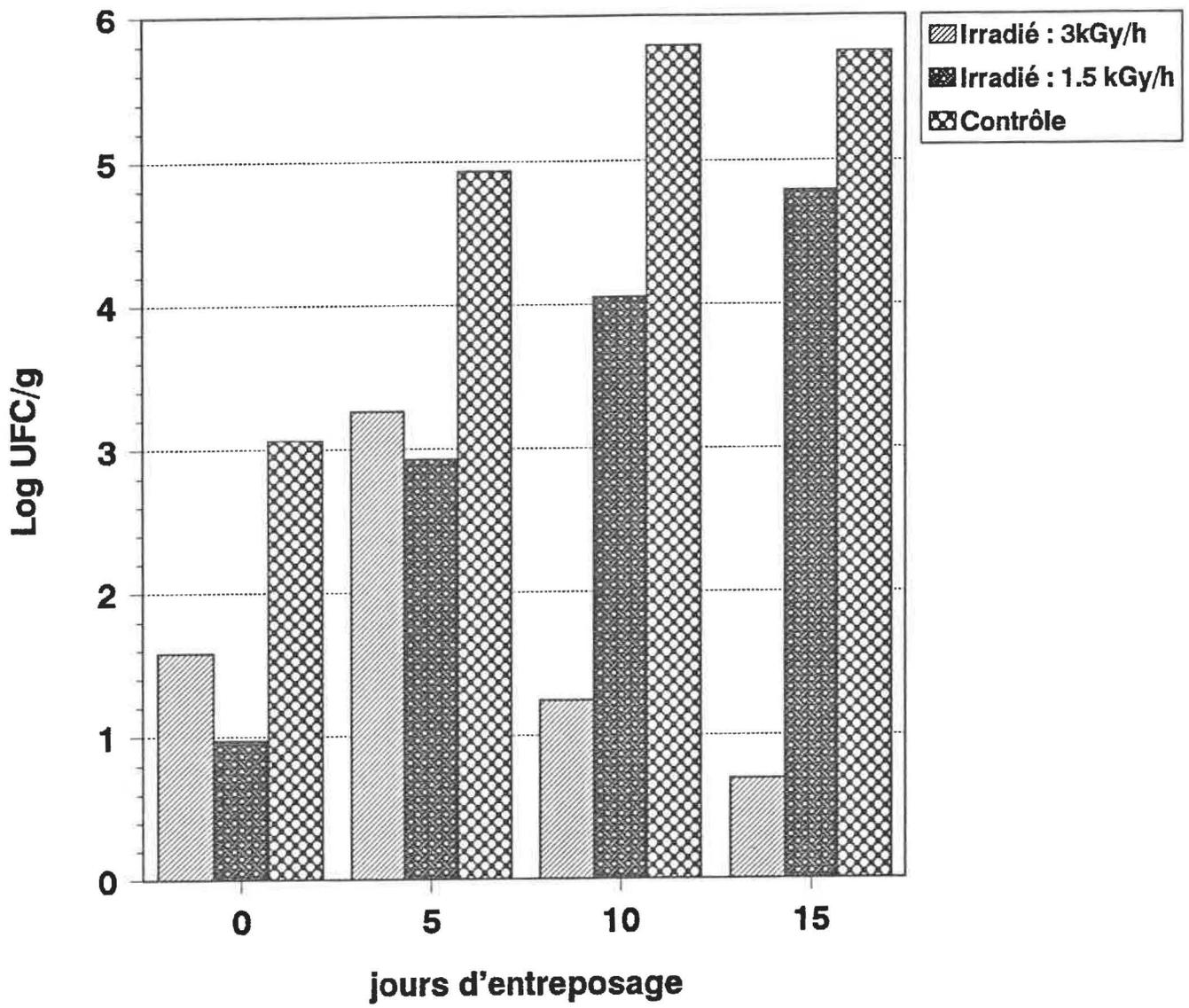


Tableau 3.10: Effets de différentes doses d'irradiation sur la flore de moisissures de fèves entreposées à 30°C et à 85% d'humidité relative

Doses (kGy)	Durée d'entreposage (Jours)			
	0	5	10	15
0	3.1	4.9	5.8	7.5
1.5	0.9	2.9	4.0	4.8
3	1.6	3.2	1.2	0.7

Figure 3.15: Comparaison de la croissance de moisissures sur les fèves légumineuses (*Vigna unguiculata*) irradiées à 1.5 et 3 kGy, et les fèves sans traitement d'irradiation



Au cours de l'entreposage, la croissance des colonies des moisissures sur les fèves témoins progressait de façon constante du début à la fin. Chez les irradiés à 1,5 kGy, la vitesse de croissance des moisissures est presque identique au témoin. Pour les irradiés à 3 kGy, le maximum de dénombrement (3.2 UFC) fut obtenu au cinquième jour avant d'être suivi d'une réduction des colonies jusqu'au quinzième jour, où le compte était devenu quasiment nul (0.7 UFC) .

Des moisissures isolées à partir des colonies dénombrées sur les fèves irradiées et le contrôle, puis identifiées par le Laboratoire de Santé Publique de Sainte-Anne de Bellevue (Montréal, Canada), ont révélé la composition suivante: *Aspergillus niger*, *A. versicolor*, *Penicillium sp.*, *Cladosporum sp.*, *Rhizopus sp.*, et *Alternaria sp.* .

DISCUSSION

1. EFFETS DE L'IRRADIATION SUR LA DESAMIDATION DES PROTEINES

L'objectif de cette étude sur la désamidation des protéines est de vérifier l'effet des doses et du débit de doses d'irradiation sur les protéines de porc et l'albumine-globuline des fèves d'haricots. En effet, l'irradiation a efficacement fait augmenter le taux de désamidation des protéines en fonction des doses, 2, 4 et 8 kGy utilisées; de même, les échantillons traités au débit de doses de 38.1 kGy/h ont présentés un meilleur degré de désamidation par rapport à ceux traités à 4.4 kGy/h.

Cette augmentation en fonction de la dose d'irradiation est en accord avec les travaux de Taub et al. (1976); Merritt et al.(1978), qui ont démontré qu'une augmentation des doses d'irradiation résulte en une augmentation des produits de radiolyse. Dans le cas de la désamidation, celle-ci s'explique par la formation, progressive en fonction des doses, d'ammoniaque suite à la radiolyse de groupements amides latéraux de certains acides aminés tels que l'acide aspartique et l'acide glutamique.

Les deux types de protéines étudiées ne sont pas de même nature, l'un ayant un contenu en eau plus élevé (protéines de porc) que l'autre (albumine-globuline de fèves). On pose l'hypothèse que c'est cette différence de contenu en eau des deux types de protéines qui expliquerait la supériorité des taux de désamidation chez le porc (où on a obtenu 98% et 64% respectivement à 38.1 et 4.1 kGy/h) par rapport aux fèves (où on a obtenu 66% et 48% respectivement à 38.1 et 4.4 kGy/h).

En effet, dans les aliments en contenu en eau faible comme le cas des fèves étudiées, l'ionisation des molécules de protéines s'effectue principalement par l'action directe des radiations alors que chez les aliments en contenu en eau plus élevé, l'action des radiations s'exprime non seulement par effets directs sur les molécules mais également par action indirecte des radicaux et électrons libres (e_{aq} et $\cdot OH$) qui résultent de la radiolyse de l'eau (Delincée, 1983). Ces électrons aqueux et radicaux libres viennent ainsi amplifier les effets des radiations. Une autre explication serait basée sur la plus grande radiosensibilité des protéines myofibrillaires par rapport aux protéines globulaires (Zabielski et al., 1984).

2. EFFETS DE L'IRRADIATION SUR LES GROUPEMENTS SULFHYDRILES

Dans l'ensemble, les résultats obtenus concernant la désulfuration des protéines de porc et les fèves, à l'exception du porc traité à 8 kGy, on a remarqué une diminution des groupements sulfhydriles des protéines en fonction des doses d'irradiation utilisées. Mais les échantillons traités à 38.1 kGy/h présentaient moins de diminution que ceux traités à 4.4 kGy/h. D'autres auteurs ont également établis une relation entre la dose d'irradiation et le nombre de groupements sulfhydriles (Mohamed, 1969; Stockhausen et Bogl, [IAEA-SM-221/19]; Chambers et al., 1990). Selon Stockhausen et Bogl, le contenu en SH disponibles diminue

en fonction de l'augmentation de la dose d'irradiation et peut être utilisé comme indice du degré d'hydrolyse de protéines directement relié à leur valeur nutritive.

Cette diminution des SH disponibles s'explique par les effets directs et indirects des radiations Gamma sur les protéines et les acides aminés soufrés (cystine, cystéine, méthionine). En effet, ces derniers sont très réactifs vis-à-vis des électrons hydratés (e_{aq}) et s'oxydent pour former des radicaux soufrés. Selon Merritt (1966), la cystéine et la cystine peuvent produire des groupements SO_2 , des alcanes et même des méthylsulfures. Cependant, en présence d'oxygène, l'effet des radiations peut être réduit du fait que les électrons aqueux et les protons réagissent plutôt avec l'oxygène pour donner des radicaux $\cdot OH$ qui réagissent plus facilement avec d'autres composés plutôt qu'avec les groupements soufrés. Ceci se traduit souvent par une diminution de l'effet oxydant des rayonnements Gamma qui oxydent alors peu les SH disponibles en fonction de l'augmentation de la dose d'irradiation: c'est un phénomène observé avec l'augmentation des doses d'irradiation et en présence d'oxygène (Stockhausen et Bogl, IAEA-SM-221/19).

3. EFFETS DE L'IRRADIATION SUR L'HYDROPHOBICITE DES PROTEINES

Nous avons remarqué que les doses d'irradiation utilisées n'induisent pas une variation significative ($p \leq 0.05$) de l'hydrophobicité entre les différents traitements. Cette observation est vraie aussi bien pour les protéines de porc que pour les protéines de fèves. Cependant, ces variations demandent des explications. Selon Nakai et al. (1985), une augmentation de l'hydrophobicité résulte d'une augmentation des expositions des groupements acides aminés hydrophobes internes des protéines, liée au clivage des ponts disulfides (S-S), sulfhydriles (SH_2) et amides (NH_3) lors de la radiolyse des protéines. Par contre, une diminution de l'hydrophobicité s'expliquerait par le fait que la protéine au lieu de se dérouler sous l'effet de la dénaturation, provoquée par l'irradiation, voit plutôt ses molécules former des agrégats. Cette agrégation résulterait de la formation de liaisons hydrophobes, hydrogènes, ioniques et disulfides (Jaenicke, 1964, 1965): les ponts disulfides pouvant se former à partir d'une réaction d'échanges entre les groupements sulfhydriles et disulfides.

4. EFFETS DE L'IRRADIATION SUR LA SOLUBILITE DES PROTEINES

Les résultats, montrent que la solubilité n'a également subi que de légères variations suite à l'irradiation des protéines de porc et de fèves. Dans ce cas-ci, non seulement les doses

successives ne présentent pas de différences significatives mais aussi, les débits de doses utilisées (38.1 et 4.4 kGy/h) pour les traitements n'ont pas eu d'effets. Cependant, dans l'ensemble, les protéines de porc irradié à 38.1 kGy/h ont mieux réagi aux doses d'irradiation utilisées car, si peu sont les variations de solubilité obtenue, elles existent. Pour les protéines de fèves, la seule variation intéressante a été obtenue à 4 kGy/h au débit de doses de 38.1 kGy/h). L'augmentation de la solubilité pourrait en partie s'expliquer par une augmentation de la charge nette des molécules, qui crée une répulsion électrostatique entre les molécules résultant en leur fractionnement suite à la désamidation, puis à la diminution de la taille des molécules de la protéine après radiolyse des groupements amides et soufrés (Shih, 1991; Nakai et Shigeru, 1985). D'autres études menées par Anon et al. (1990), ont démontré une augmentation de la solubilité en fonction de la diminution des SH disponibles dans les protéines de soya. Selon Shih (1991), l'augmentation de la désamidation peut permettre une augmentation de la solubilité à condition de ne pas dépasser une radiolyse de plus de 2% des ponts peptidiques car une désamidation qui favorise la solubilité est celle essentiellement liée à la radiolyse des amides latéraux. L'augmentation de la solubilité observée chez les protéines de porc irradié à 38.1 kGy/h par rapport aux protéines de fèves pourraient aussi s'expliquer par le fait que la myosine qui est une protéine

myofibrillaire soit plus radiosensible que l'albumine-globuline des fèves étudiées qui est plutôt globulaire (Hassan, 1990; Lakritz et al., 1987; Zabielski et al., 1984).

5. EFFETS DE L'IRRADIATION SUR LA FLORE DE MICROORGANISMES DU PORC ET DES FEVES

5.1 Dénombrement des mésophiles et des psychotrophes du porc

Les histogrammes de dénombrement des mésophiles et des psychotrophes du porc irradié à 1, 3 kGy et les témoins montrent une croissance des flores en fonction du temps d'entreposage; on observe un retard de croissance chez les échantillons irradiés par rapport aux témoins. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par James et al. (1986); Ito et al. (1971). La flore de mésophiles et de psychotrophes des échantillons irradiés à 1 kGy montre une différence peu marquée avec les témoins au début de l'entreposage, avant de devenir de plus en plus significatif vers la fin de l'entreposage. Cependant, on peut remarquer que l'effet de l'irradiation a été plus efficace chez les échantillons de porc et de fèves irradiés à 3 kGy par rapport à 1 kGy, en comparant le nombre d'unités formatrices de colonies (UFC) au début et à la fin de l'entreposage. Dans tous les cas, le nombre d'UFC est rarement supérieur à 10^6 UFC, qui est le seuil indicateur de la dégradation (Kraft et Ayres, 1952).

En effet, dans le cas des échantillons irradiés à 3 kGy, le nombre d'unités formatrices de colonies est encore bien plus loin de 10^6 UFC pendant tout l'entreposage. Ainsi, nous pouvons déduire que l'irradiation à 3 kGy est efficace pour épargner le porc entreposé à 4°C de bactéries mésophiles et psychotrophes pendant au moins 9 jours mais une irradiation à 1 kGy serait aussi bien largement suffisant car, à ces dernières doses, à l'exception de quelques bactéries radiorésistantes, la plupart des bactéries Gram négatif mésophiles et psychotrophes dont est constitué la flore végétative non pathogène sont éliminées par action des radiations sur le matériel génétique des bactéries (Grecz et al., 1983; Weiser et al., 1971).

5.2 Effets de l'irradiation sur les *Pseudomonas* du porc

Les résultats démontrent que l'exposition des échantillons de porc, à des doses d'irradiation (1 et 3 kGy) est assez efficace pour inhiber toute croissance de *Pseudomonas* pendant l'entreposage à 4°C et ce, jusqu'au jour 9 au moins. Cette efficacité des doses utilisées pour épargner le porc de *Pseudomonas* pendant l'entreposage serait en partie due à l'extrême radiosensibilité de ces derniers. Le contenu en *Pseudomonas* au jour zéro dans le témoin de l'échantillon traité à 3 kGy (5.8 UFC) démontre bien sa plus grande contamination de départ par rapport aux échantillons traités à 1 kGy (2.8 UFC): les deux traitements (1 et 3 kGy)

étant fait sur des porcs non identiques. Du fait de cette différence de contamination initiale, l'irradiation à 1 kGy a totalement inactivé les *Pseudomonas*, ce qui explique la quasi absence de croissance pendant les deux semaines d'entreposage, alors que dans le cas des échantillons traités à 3 kGy, on a noté une reprise de la croissance de la flore de *Pseudomonas* après le 9^{ième} jour d'entreposage.

La capacité d'inactivation des *Pseudomonas* des radiations, est d'une part due, à l'action des rayonnements Gamma sur l'ADN des cellules et d'autre part, au degré de contamination initiale du porc puis au type d'espèces. Le *Pseudomonas* est considéré comme un intervenant majeur dans la détérioration du porc frais (Ayres, 1960; Brown et Weideman, 1958; Jay, 1967).

5.3 Effets de l'irradiation sur la flore des fèves entreposées

L'observation des résultats montre que l'irradiation, comme dans le cas des bactéries, peut aussi, bien contribuer à réduire la flore de moisissures sur les fèves d'haricots et en fonction des doses d'irradiation. Des colonies de moisissures isolées et identifiées ont révélé une présence plus abondante d'*Aspergillus* sp. et de *Penicillium* sp. sur les échantillons témoins en plus

d'*Alternaria sp.* et de *Rhizopus sp.* .

Sur les échantillons traités à 1.5 kGy, on observe une diminution notable de la flore caractérisée par un retard dans la croissance par rapport aux témoins au cours de l'entreposage et une quasi absence du genre *Penicillium sp.* .

Par contre, ceux traités à 3 kGy ont été de meilleure qualité: non seulement ces échantillons ont connu une plus faible croissance de la flore lors de l'entreposage mais aussi la composition de cette flore présente le moins de diversité caractérisé par les genres *Rhizopus sp.*, *Cladosporium sp.* et *Alternaria sp.* . Nos observations sont en accord avec la littérature (Mohyuddin et Skoropad, 1970; Basson et Villiers, 1992). Selon Basson et Villiers (1992), *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.* et *Rhizopus sp.* sont les plus radiosensibles des moisissures ce qui explique leur quasi absence sur les échantillons irradiés à 3 kGy; *Alternaria sp.* et *Cladosporium sp.* ne peuvent être inactivés qu'à des doses supérieures à 6 kGy.

Le fait que l'histogramme de croissance des échantillons irradiés à 3 kGy présente une flore plus importante (1.6 UFC) par rapport aux échantillons traités à 1,5 kGy (0.9 UFC) au jour zéro, peut s'expliquer par l'absence de compétition quasi spontanée, due à la disparition des souches de *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.* et de *Rhizopus sp.* . Selon certains auteurs, l'irradiation, tout en favorisant la réduction de la flore des moisissures, peut dans certains cas, faire augmenter la production d'aflatoxine:

cette production de toxine inhibant la croissance de la flore pourrait expliquer le déclin dans la croissance des échantillons irradiés à 3 kGy après le 5^{ième} jour d'entreposage (ICMSF, 1980).

CONCLUSION

A partir des résultats obtenus, nous pouvons conclure que l'irradiation a permis une meilleure désamidation en fonction des doses utilisées chez le porc par rapport aux fèves; de même, les traitements à 38.1 kGy/h ont donné une désamidation supérieure par rapport à 4.4 kGy/h. Les analyses de désulfuration, d'hydrophobicité et de solubilité effectuées sur des protéines de porc et de fèves irradiés aux mêmes doses que précédemment, ont montré dans l'ensemble peu de variation qui s'explique par la faiblesse des doses et des débits de doses utilisés, puis aussi par une très grande réversibilité dans les réactions et comportements des protéines. En fait, de toutes ces analyses biochimiques, les doses et débits de doses les plus intéressants seraient ceux qui nous auraient permis simultanément:

- une augmentation de la désamidation
- une diminution des sulfhydriles disponibles
- une diminution de l'hydrophobicité
- une augmentation de la solubilité

Cependant, du fait de la très grande réversibilité structurale des protéines, nous avons seulement retenu les doses qui ont pu permettre une augmentation de la désamidation et solubilité car, lorsqu'elle sont améliorées, ces propriétés favorisent la digestibilité des protéines.

Ainsi, pour les doses et débits de doses utilisés, les échantillons irradiés à 2, 4 et 8 kGy à 38.1 kGy/h peuvent être retenus et recommandés pour études de digestibilité et de

valeurs nutritives qui pourraient être poursuivies sur les protéines irradiées.

Du point de vue microbiologique, les résultats des analyses sur les échantillons de porc et de fèves irradiés puis entreposés ont démontré une diminution de la flore bactérienne du porc et fongique des fèves en plus d'un allongement appréciable d'au moins une semaine du temps d'entreposage pour les doses utilisées. Toutefois, d'autres travaux peuvent être poursuivis afin de déterminer le degré de mutation que l'irradiation peut induire aux microorganismes, d'établir une corrélation entre la présence de toxine et les différentes souches régulièrement rencontrées.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier sincèrement:

- mon directeur de thèse, Docteur Monique Lacroix, de m'avoir accepté comme candidat à la maîtrise et d'avoir financé, supervisé et dirigé ce travail avec compréhension et disponibilité.
- mon co-directeur Feu Docteur Marcel Gagnon, ex-directeur du Centre de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (CRESALA), pour avoir initié ce travail en m'acceptant dans ses laboratoires et encouragé tout au long de ces deux dernières années.
- M. Benoît Latreille, M. Sylvain Milot, Mme Chantal Thibault et Mme Michelle Jobin pour leurs conseils techniques très appréciés.
- tout le personnel du Centre d'Irradiation du Canada (CIC) pour leur contribution directe et indirecte à ce travail.
- à l'équipe de l'informatique et de la bibliothèque de l'Institut Armand-Frappier (IAF) pour leurs conseils et services rendus.

- M. Guy St-Germain, chercheur au Laboratoire de Santé Publique à Sainte-Anne-de-Bellevue (Montréal, Canada), pour sa collaboration.

- Mme Adrienne Munger et M. Claude de Laroche pour leur complément financier et générosité.

- Mme Denise Papineau et Mme Francine Boudreau pour leurs multiples services.

BIBLIOGRAPHIE

ANON et al. 1990. Influence of denaturation, hydrophobicity and sulfhydryl content on solubility and water absorbing capacity of soy proteine isolates. *J. Food Sci.*, 55: 765-773.

ANDRIYEV'S'KYI, I. et A.I. BONDARCHUK. 1976. Dynamics of mycoflora development on cereal grains. (*Biol. Abstr.*, 64, 2017, 1977) *Ukr. Bot. Zh.*, 33(5): 498-501.

AYRES, J.C. 1960. Temperature relationships and some other characteristics of the microbial flora developing on refrigerated beef. *Food Res.*, 25: 1-18.

BASSON, A.B.K. et O.T. VILLIERS. 1992. Effect of irradiation on quality characteristics of clipper barley and malt. *American Society of Brewing Chemists, Inc.*

BEAN, G.A., J.A. SCHILLINGER et W.L. KLARMAN. 1972. Occurrence of aflatoxins and aflatoxin-producing strains of *Aspergillus spp.* in soybeans. *Appl. Microbiol.*, 24: 437-439.

BEAULIEU, M., M. LACROIX, R. CHARBONNEAU, I. LABERGE et M. GAGNON. 1992. Effects of gamma irradiation dose rate on microbiological and physical quality of mushrooms (*Agaricus Bisporus*). *Sci. Alts.*, 12: 289-303.

BEERENS, H. et L. SAINT LEBE. 1979. L'Irradiation des aliments. *L'Alimentation et la Vie*, 67: 53-71.

BERGMEYER, H.U. et H.O. BEUTLER. 1985. *Methods of Enzymatic Analysis*, Ed. H.U. Bergmeyer. 3e Ed., Vol. III. Verlag Chemie Weinheim, Deerfield Beach, Florida, Basel.

BLICKSTAD, E. et G. MOLIN. 1983. The microbial flora of smoked pork loin and frankfurter sausage stored in different gas atmospheres at 4°C. *J. Appl. Bacteriol.*, 54: 45-56.

BRIDGES, B.A. et T. HORNE. 1959. The influence of environmental factors on the microbicidal effect of ionizing radiations. *J. Appl. Bacteriol.*, 22: 96-115.

BROWN, A.D. et J.F. WEIDMAN. 1958. The taxonomy of the psychrophilic meat spoilage bacteria: a reassessment. *J. Appl. Bacteriol.*, 21: 11-17.

BROWN, M.H. et A.C. BAIRD-PARKER. 1982. *The microbiological examination of meat. Meat Microbiology*, Ed. M.H. Brown. London, Appl. Sci. Publishers: 423-520.

CHAMBERS et al. 1990. Gamma irradiation of shell eggs. Internal and sensory quality, physicochemical characteristics, and functional properties. *Can Inst. Food Sci. Technol. J.*, 23: 226-232.

CHAVES, N., N.R. TEODOSIO, A.G.JR. MATOS, C.A. LIMA et J.L. ALMEIDA. 1952. As proteínas do feijao macassa na nutricao. *Rev. Bras. Med.*, Rio de Janeiro, Brasil, 9(9): 603.

CHEFTEL, J.C., J.L. CUQ et D. LORIENT. 1985. Protéines alimentaires, technique et documentation, Ed. Lavoisier. Paris: p 309.

CHRISTENSEN, C.M. 1967. Increase in invasion by storage fungi and in fat acidity values of commercial lots of soybeans stored at moisture contents of 13.0 - 14.0% . *Phytopathol.*, 57(6): 622-624.

CHRISTENSEN, C.M.E. et H.H. KAUFMAN. 1974. Microflora. Storage of Cereal Grains and their Products, *Am. Assoc. Cereal Chem.*, St-Paul, Minnesota. Monogr. Ser., Vol. 5: 158-192.

CHRISTENSEN, C.M. 1978. Moisture and seed decay. Water Deficits and Plant Growth, Vol. 5: Water and Plant Diseases, Ed. T.T. Kozlowski. Academic Press, New York: 199-219.

CHRISTENSEN, C.M. et D.R. GORDON. 1948. Mold flora of stored wheat and corn and its relation to heating of moist grain. *Cereal Chem.*, 25: 40-51.

CHRISTENSEN, C.M. et H.H. KAUFMANN. 1977. Good grain storage. *Agric. Ext. Serv.*, Ext. Folder No. 226 (revised), Univ. of Minn., St-Paul.

CHRISTENSEN, S.G. 1980. *Yersinia enterocolitica* in Danish pigs. *J. Appl. Bacteriol.*, 48: 377-382.

CLARK, W.S., Jr., G.W. REINBOLD et R.S. RAMBO. 1966. Enterococci and coliforms in dehydrated vegetables. *Food Technol.*, 20: 1353- 1356.

DELINCEE H. 1983. Recent advances in radiation chemistry of proteins. Federal research centre for Nutrition, Engesserstr. 20, D-7500 Karlsruhe (Federal Republic of Germany).

DESROSIERS, N.W. 1970. In Preservation of food with ionizing radiations. *The Technology of Food Preservation*, 3rd edition. Connecticut: AVI Publishing Company: 313-364.

DIEHL, J.F. 1973. Irradiated food. *Sci.*, 180: 215.

DIEHL, J.F. 1990. Safety of irradiated foods. *F. Sci. and Technol.*; p 36.

ENFORS, S., G. MOLIN et A. TERNSTROM. 1979. Effect of packaging under carbon dioxide, nitrogen or air on the microbial flora of pork stored at 4°C. *J. Appl. Bacteriol.*, 47: 197- 208.

FARKAS, J. 1973. Radurization and radacidation of spices. Aspects of the introduction of Food Irradiation in Developing Countries. IAEA PL-518/6, IAEA, Vienna: 43-59.

FEENEY, R.E. 1980. Overview on the chemical deteriorative changes of proteins and their consequences. In *Chemical Deterioration of Proteins*, Eds. Whitaker J.R. et Fujimaki, M. . Am. Chem. Soc., Washington, D.C.: 1-49.

FEENEY, R.E. et J.R. WHITAKER. 1977. Food proteins. Improvement through chemical and enzymatic modification. *Adv. Chem. Ser.*, Am. Chem. Soc., Washington, D.C., 160: 312 p.

FORREST J. C. et al. 1975. Principles of meat science. W.H. Freeman and Company. San Francisco.

FRONING, G.W. 1978. Food irradiation in the United States. Final report of the panel on irradiation of poultry and poultry products. Prepared for the Interdepartmental Committee on Radiation Preservation of Foods by Panels of Experts on Each of the Major Foods, Ed. A. Brynjolfsson. U.S. Army Natick Research & Development Laboratories, Natick, MA.

GILL, C.O. 1982. Microbial interaction with meats. *Meat Microbiology*, Ed.M.H. Brown. London: Appl. Sci. Publishers: 225-264.

GILL, C.O. 1976. Substrate limitation of bacterial growth at meat surfaces. *J. Appl. Bacteriol.*, 41: 401-410.

GILL C.O. et K.G. NEWTON. 1977. The development of the aerobic spoilage flora of meat stored at chill temperatures. *J. Appl. Bacteriol.*, 43: 189-195.

GOLDBLITH, S.A. 1966. Historical development of food irradiation. *Food Irradiation*. Vienna: International Atomic Energy Agency: 3-17.

GOESLINE, H.E. 1982. Historical aspects of the radiation preservation of food. In *Preservation of Food by Ionizing Radiation*, Ed. E.S. Josephson et M.S. Peterson. CRC Press Inc., Boca Raton, FL., Vol. 1.

GOESLINE, H.E., M. INGRAM, P. MECUCH, G. MOCQUOT, D.A.A. MOSSEL, C.F. NIVEN et F.S. THATCHER. 1964. Tentative classification of food irradiation processes with microbiological objectives. *Nature*, 204: 237-238.

GRANT, I.R. 1990. The microbiology of irradiated pork. Thesis. Queen's University of Belfast, Ireland.

GRECZ, N., D.B. ROWLEY et A. MATSUYAMA. 1983. The action of radiation on bacteria and viruses. In Preservation of Food by Ionizing Radiation, Ed. E.S. Josephson et M.S. Peterson, CRC Press Inc., Florida, 2: 167-218.

HAFEZ, S.Y., MOHAMED I.A., SINGH G. et M.F. HEWEDY. 1985. Effects of gamma irradiation on proteins and fatty acids of soybean. J. Food Sci. 50: 1271-1274.

HANNA, M.O., G.C. SMITH, L.C. HALL, C. VANDERZANT et A.B. CHILDERS. 1980. Isolation of Yersinia enterocolitica from tonsils. J. Food Protect., 43: 23-25.

HAREIN, P.K. 1969. The granary weevil as a carrier of fungi and pathogenic bacteria. Proc. Symp. Biol. Contam. Grain Anim. Byprod., Agric. Ext. Serv., Dep. Entomol., Fish., Wildl., Univ. of Minnesota, Minneapolis: 89-91.

HASSAN, J.H. 1990. Electrophoretic analysis of proteins from chicken after irradiation and during cold storage. Food Chem., 35: 263-273.

HESSELTINE, C.W. 1976. Conditions leading to mycotoxin contamination of foods and feeds. In Mycotoxins and other Fungal Related Food Problems, Ed. J.V. Rodricks. Adv. Chem. Ser., No. 149, Am. Chem. Soc., Washington, D.C.: 1-22.

HODGES, T.O., H.H. CONVERSE et SAUER D.B. 1971. Some effects of cooling rates on quality of high moisture corn. Trans. ASAE, 14: 649-655.

HUBER, W. 1945. Electronics, 21, 74 as cited by Brynjolfsson, A. (1989) Future radiation sources and identification of irradiated foods. Food Technol., 43: 84-89, 97.

HULTIN, H.O. 1976. Characteristics of muscle tissue. Principles of Food Science. Part 1. In Food Chemistry, Ed. O.R. Fennema. Marcel Dekker Inc., NY: 577.

HUSZKA, T., I. CSEFALVY et K. INCZE. 1973. Sterilization of powdered paprika by means of hydrochloric acid (in Hung.). Konzerv. Paprikaip No. 6 (Food Sci. Technol. Abstr., 7(2) 2J246, 1975): 213-217.

IAEA. 1989. IAEA News Features, Number 5. Vienna: International Atomic Energy Agency.

I.C.M.S.F. 1980. In Microbial ecology of foods. Vol.I: Factors affecting life and death of microorganisms. Vol.II: Food commodities, Academic Press. New York.

IIZUKA, H. 1957. Studies on the microorganisms found in Thai rice and Burma rice. On the microflora of Thai rice. J. Gen. Appl. Microbiol., 3(2): 146-161.

IIZUKA, H. 1958. Studies on the microorganisms found in Thai rice and Burma rice. Part II. On the microflora of Burma rice. J. Gen. Appl. Microbiol., 4(2): 108-119.

INGRAM, M. et R.H. DAINTY. 1971. Changes caused by microbes in spoilage of meats. J. Appl. Bacteriol., 34: 21-39.

ITO, H., SHIBABE, S., et H. IIZUKA. 1971. Effect of storage studies of microorganisms on Gamma-irradiated rice. Cereal Chem. 48: 140-149

JAENICKE, R. 1965A. Intermolekulare wechselwirkungen bei der warmeaggregation globularer proteine. Z. Naturforsch., Teil B, 20: 21.

JAENICKE, R. 1965B. Warmeaggregation und warmedenaturierung von proteinen. Warmebehandlung von Lebensmitteln, Dechema-Monographie, Verlag Chemie, Weinheim, 56: 207.

JAENICKE, R. 1964. Zum mechanismus der warmeaggregation globularer proteine. Ber. Bunsenges Phys. Chem., 68: 857.

JAMES, D.B., MATTISON, M.L., KRAFT, A.A., OLSON, D.G., WALKER, H. W. et R.E. ROST. 1986. Effect of low dose irradiation of pork lions on the micriflora, sensory characteristics and fat stability. J. Food Sc. 51: 284-287.

JAY, J.M. 1978. Food preservation by use of radiation. In Modern Food Microbiology, 2nd edition. New York: Van Nostrand Reinhold Company: 185-208.

JAY, J.M. 1967. Nature, characteristics and proteolytic properties of beef spoilage bacteria at low and high temperatures. Appl. Microbiol., 15: 943-944.

JOSEPHSON, E.S. 1983. Radappertization of meat, poultry, finfish, shellfish and special diets. In Preservation of foods by ionizing radiation Volume III, Ed. E.S. Josephson & M.S. Peterson. Florida: CRC: 232-251.

KATO et NAKAI. 1980. Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of protéins. Biochimica and biophysica. Acta 624: 13-20.

KATO, A., N. TSUTSUI, K. KOBAYASHI et S. NAKAI. 1981. Effects of partial denaturation on surface properties of ovalbumin and lysozyme. Agricultural Biological Chemistry, 45: 2755-2760.

KESKINEL, A., J.C. AYRES et H.E. SNYDER. 1964. Determination of oxidative changes in raw meats by the 2-thiobarbituric acid method. Food Technol., 18: 223-226.

KINSELLA J.E. 1976. Functional properties of proteins in foods: a survey. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 7: 219.

KISS, I., J. FARKAS, S. FERENCZI, B. KALMAN et J. BECZNER. 1974. Effects of irradiation on the technological and hygienic qualities of several food products. *Improvement of Food Quality by Irradiation, STI/PUB/370, IAEA, Vienna: 158-177.*

KOTULA, A.W. 1987. Control of extrinsic and intrinsic contamination of pork. In *Elimination of pathogenic organisms from meat and poultry*, Ed. F.J.M. Smulders. Amsterdam, Elsevier Science Publishers: 181-201.

KRAFT, A.A. et J.C. AYRES. 1952. Post-mortem changes in stored meats. IV. Effect of packaging materials on keeping quality of self-service meats. *Food Technol.*, 6: 8.

LAKRITZ, L., R.J. CARROLL, R.K. JENKINS et G. MAERKER. 1987. Immediate effects of ionizing radiation on the structure of unfrozen bovine muscle tissue. *Meat Sci.*, 20: 107-117.

LAMBERT, A.D., J.P. SMITH, K.L. DODDS et R. CHARBONNEAU. 1992. Microbiological changes and shelf life of MAP, irradiated fresh pork. *Food Microbiol.*, 9: 231-244.

LANGLEY-DANYSZ, P. 1985. L'Irradiation des aliments. *La Recherche*, 16: 557.

LATREILLE, B., M. LACROIX, L. ICART, C. SIMARD et M. GAGNON. 1993. Effect of dose and dose-rate of irradiation on emulsifying capacity of chicken proteins. *Sci. Alts.*, 13: 97-107.

LAWRIE, R.A. 1985. The conversion of muscle to meat. In *Meat Science*, 4th ed.: 74-91.

LAWRIE, R.A., D.P. GATHERUM et H.P. GALE. 1958. Abnormally low ultimate pH in pig muscle. *Nature*, 182: 807-808.

LEA, O.E. 1956. *Actions of Radiations on Living Cells*. London: Cambridge University Press.

LI-CHAN, E. 1983. Heat-induced changes in proteins of whey protein concentrate. *J. Food Sci.*, 48: 47-56.

LI-CHAN, E., S. NAKAI et D.F. WOOD. 1984. Hydrophobicity and solubility of meat proteins and their relationship to emulsifying properties. *J. Food Sci.*, 49: 345-350.

LICHTIN, N.N., OGDAN J. et G. STEIN. 1973. *Radiat. Res.* 55: 69.

LUTEY, R.W. et C.M. CHRISTENSEN. 1963. Influence of moisture content, temperature and length of storage upon survival of fungi in barley kernels. *Phytopathol.*, 53: 713-717.

MA, C.Y., M.R. SAHASRABUDHE, L.M. POSTE, V.R. HARWALKAR et J.R. CHAMBERS. 1990. Gamma irradiation of shell eggs. Internal and sensory quality, physicochemical characteristics and functional properties. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, 23: 226-232.

MACKEY, B. 1989. The incidence of food poisoning bacteria on red meat and poultry in the United Kingdom. *Food Science and Technology Today*, 3: 246-250.

MAJUMDER, S.K.. 1974. Control of Microflora and Related Production of Mycotoxins in Stored Sorghum, Rice and Groundnut. P.M. Kuruvilla, Wesley Press, Mysore, India.

MAJUMDER, S.K., K.S. NARASIMHAN et H.A.B. PARPIA. 1965. Microecological factors of microbial spoilage and the occurrence of mycotoxins on stored grains. *Mycotoxins in Foodstuffs*, Ed. G.N. Wogan. MIT Press, Cambridge, Massachusetts: 27-47.

MATTISON, M.L., A.A. KRAFT, D.G. OLSON, H.W. WALKER, R.E. RUST et D.B. JAMES. 1986. Effect of low dose irradiation of pork loins on the microflora, sensory characteristics and fat stability. *J. Food Sci.*, 51: 284-287.

MCARDLE, F.J. et N.M. DESROSIER. 1955. Influences of ionizing radiations on the protein components of selected foods. *Food Technol.*, 9: 527.

MCMEEKIN, T.A. 1982. Microbial spoilage of meats. In *Developments in Food Microbiology I.*, Ed. R. Davies. London: Applied Science Publishers: 1-40.

MEANS, G.E. et R.E. FEENEY. Chemical modification of proteins. Holden-Day Inc., San Francisco, U.S.A.: 254. 1971.

MERRITT, C.Jr. 1966. Chemical changes induced by irradiation in meats and meat components. *Food Irradiat., Proc. Int. Symp. STI/ PUB/127*: 197.

MERRITT, C.M., P. ANGELINI et GRAHAM R.A. 1978. Effect of radiation parameters on the formation of radiolysis products in meat and meat substances. *J. Agr. Food Chem.*, 26: 29.

MISLIVEC, P.B. et J. TUIITE. 1970. Temperature and relative humidity requirements of species of *Penicillium* isolated from yellow dent corn kernels. *Mycologia*, 62: 75-88.

MISLIVEC, P.B. et V.R. BRUCE. 1977. Incidence of toxic and other mold species and genera in soybeans. *J. Milk Food Technol.*, 40: 309-312.

MISLIVEC, P.B., C.T. DIETER et V.R. BRUCE. 1975. Mycotoxin producing potential of mold flora in dried beans. *Appl. Microbiol.*, 29: 522-526.

MOHAMED, S.Y. 1969. The effect of ionizing radiation on selected chemical, physical and microbiological characteristics of egg white proteins. Dissertation, Texas A&M University.

MOHYUDDIN, M. et W.P. SKOROPAD. 1970. Effect of Cobalt 60 gamma irradiation on the survival of some fungi in single samples of each of three different grades of wheat. *Can. J. Bot.*, 48: 217-219.

MOSSEL, D.A.A. 1971. Physiological and metabolic attributes of microbial groups associated with foods. *J. Appl. Bacteriol.*, 34: 95-118.

MOSSEL, D.A.A., et M. INGRAM 1955. The physiology of the microbial spoilage of foods. *J. Appl. Bacteriol.* 18: 232-268.

MOSELEY, B.E.B. 1984. Radiation damage and its repair in non sporulating bacteria. The revival of Injured Microbes. Society for Applied Bacteriology Symposium Series Number 12, Ed. M.H.E. Andrew & A.D. Russell. London: Academic Press: 147-174.

MYERS, B.R., R.T. MARSHALL, J.E. EDMONSTON et W.C. STRINGER. 1982. Isolation of pectinolytic *Aeromonas hydrophilla* and *Yersinia enterocolitica* from vacuum-packaged pork. *J. Food Protect.*, 45: 33-34.

NAKAI, S. et S. HAYAKAWA. 1985. Relationships of hydrophobicity and net charge to the solubility of milk and soy proteins. *J. Food Sci.* 50: 486-488.

NAKAI, S. et W.D. POWRIE. 1981. Modification of proteins for functional and nutritional improvements. *Cereals: A renewable resource*, Ed. Y. Pomeranz et L. Munck. Amer. Assoc. Cereal Chem., St-Paul, MN.

NAWAR, W.W., et J.R. BALBONI. 1970. Detection of irradiation treatment in foods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 53: 726.

NEWTON, K.G., J.C.L. HARRISON et A.M. WAUTERS. 1978. Sources of psychrotrophic bacteria on meat at the abattoir. *J. Applied Bacteriol.*, 45: 75-82.

NIEMAND, G. 1987. Food irradiation in perspective. *Food Rev.*: 58-59.

NIEMAND, J.G., H.J. VAN DER LINDE et W.H. HOLZAPFEL. 1981. Radurization of prime beef cuts. *J. Food Protect.*, 44: 677-681.

- NOTTINGHAM, P.M. 1982. Microbiology of carcass meats. *Meat Microbiol*: 13-65.
- PATTERSON, J.T. et P.A. GIBBS. 1978. Sources and properties of some organisms isolated in two abattoirs. *Meat Sci.*, 2: 263- 273.
- RICHARDSON, L.R., S.J. RITCHEY et R.H. RIGDON. 1960. A long-term feeding study of irradiated foods using rats as experimental animals. *Fed. Proc.*, 19: 1023.
- ROBERTS, T.A. et SMART J.L. 1976. The occurrence and possible growth of *Clostridium* spp. in vacuum-packaged bacon, with particular reference to *Clostridium perfringens* and *Clostridium botulinum*. *J. Food Technol.*, 11: 229-244.
- SCHIEPER, J. 1976. DFD meat and how to recognise it. *Fleischwirtschaft*, 56: 970-973.
- SCHIEMANN, D.A. 1982. Isolation of toxigenic *Yersinia enterocolitica* from retail pork products. *J. Food Protect.*, 43: 360-365.
- SEFA-DEDEH, S. et D. STANLEY. 1979. Cowpea proteins. 1. Use of response surface methodology in predicting cowpea (*Vigna unguiculata*) protein extractability. *J. Agric. Food Chem.*, 27: 1238-1243.
- SEMIENIUK, G. 1954. Microflora. Storage of Cereal Grains and their Products, Eds. J.A. Anderson et A.E. Alcock. Monograph Series, Vol. 2, Am. Assoc. Cereal Chem., St-Paul, Minnesota: 77-151.
- SHENEMAN, J. 1973. Survey of aerobic mesophilic bacteria in dehydrated onion products. *J. Food Sci.*, 38: 206-209.
- SHIH, F.F. 1991. Effect of Anions on the Deamidation of Soy Protein. *J. Food Sci.*, 56: 452-454.
- SILVERMAN, G.J. et A.J. SINSKEY. 1977. Sterilization by ionizing irradiation. In *Disinfection, Sterilization and Preservation*, 2nd edition, Ed. S.S. Block. Philadelphia: Lea & Febiger: 542-561.
- SINGH, A. et H. SINGH. 1982. Time-scale and nature of radiation-biological damage: approaches to radiation protection and post-irradiation therapy. *Proceedings of Biophysics and Molecular Biology*, 3: 69-107.
- SMART, J.L., T.A. ROBERTS, M.F. STRINGER et N. SHAH. 1979. The incidence of serotypes of *clostridium perfringens* on beef, pork and lamb carcasses. *J. Applied Bacteriol.*, 46: 377- 383.

- STERN, N.J. 1981. Recovery rate of *Campylobacter fetus* ssp. *jejuni* on eviscerated pork, lamb and beef carcasses. *J. Food Sci.*, 46: 1291-1293.
- STERN, N.J. 1982. *Yersinia enterocolitica*: recovery from foods and virulence characterisation. *Food Technol.*, 36: 84-88.
- STOCKHAUSEN, K. et W. BOGL. The level of sulphhydryl groups as an indicator of radiation treatment of meat. IAEA-SM-221/19. Institute of Radiation Hygiene, Federal Health Office, Berlin (West): 42-54.
- TAUB, I.A., P. ANGELINI et C.Jr. MERRITT. 1976. Irradiated food: validity of extrapolating wholesomeness data. *J. Food Sci.*, 41: 942.
- TELLA, A.F. et O. OJEHOMON. 1980. An extraction method for evaluating the seed protein of cowpea [*Vigna unguiculata* (L) Walp]. *J. Sci. Food Agr.*, 31: 1268-1274.
- THORNLEY, M.J. 1963. Radiation-resistance among bacteria. *J. Appl. Bacteriol.*, 26: 334-345.
- URAKAMI, C.H., M. HOSOMI et K. TOMONAGA. 1961. Effect of cobalt 60 gamma rays on fried bean curd. IV. Examination of heated soybean oil and the oil absorbed in the outer crust of the bean curd in relation with the irradiation order. *Eiyoto Shokuryo*, 14(4): 281.
- URAKAMI, C., H. HATTORI, T. UEMURA et R. TAKAHASHI. 1959. Effect of cobalt 60 gamma rays on fried bean curd. I. Storage period and flavor. *Eiyoto Shokuryo*, 12(3): 134.
- VAKIL, U.K., M. ARAVENDAKSHAN, H. SRINIVAS, P.S. CHAVHAN et A. SREENIVASAN. 1973. Wholesomeness studies with dehydro-irradiated shrimp. Radiation Preservation of food. Proc. Symp. Bombay, 1972, IAEA, Vienna.
- VAN EERD, J.P. 1971. Meat emulsion stability. Influence of hydrophilic lipophilic balance, salt concentration and blending with surfactants. *J. Food Sci.*, 36: 1121.
- VASSEUR J. P. et al. 1991. Ionisation des produits alimentaires. p 195. Ed. Ted & Doc - Lavoisier.
- VAUGHN, R.H. 1970. Incidence of various groups of bacteria in dehydrated onions and garlic. *Food Technol.*, 24: 189-191.
- WAGNER, J.R. et M.C. ANON. 1990. Influence of denaturation, hydrophobicity and sulphhydryl content on solubility and water absorbing capacity of soy protein isolates. *J. Food Sci.*, 55: 765-773.
- WALLACE, H.A.H. et R.N. SINHA. 1975. Microflora of stored grain in international trade. *Mycopathologia*, 57(3): 171-176.

WALLACE, H.A.H., R.N. SINHA et J.T. MILLS. 1976. Fungi associated with small wheat bulks during prolonged storage in Manitoba. *Can. J. Bot.*, 54(12): 1332-1343.

WEISER, H.H., G.J. MOUNTNEY et W.A. GOULD. 1971. Radiation in food preservation. *Practical Food Microbiology and Technology*, The Avi Publishing Company Inc., London, England, Chap. 17.

WILLIAMS, E.F. et R. SPENCER. 1973. Abattoir practices and their effect on the incidence of salmonellae in meat. *Microbiological Safety of Food*, Ed. B.C. Hobbs et J.H.B. Christian. London, Academic Press: 41-46.

WINTON, A.L. et K.B. WINTON. 1945. *The Analysis of Foods*, John Wiley and Sons Inc. New York.

ZABIELSKI, J., J. KIJOWSKI, W. FISZER et A. NIEWIAROWIEZ. 1984. The effect of irradiation on technological properties and protein solubility of broiler chicken meat. *J. Sci. Food and Agric.*, 35: 662-670.

