

# Substitution de sulfite pour le traitement contre la mélanose chez la crevette *Penaeus monodon* (Penaeidae) de la société Aqualma Mahajamba

Substitution of sulphite for the treatment against the melanose among the shrimp *Penaeus monodon* (Penaeidae) of the society Aqualma Mahajamba

Benjamin Christian RAMILAVONJY RAMIANDRISOA<sup>1-3</sup>, Esmeralda Aïsha VOLAHANGY<sup>1</sup>, Hery Lisy Tiana RANARIJAONA<sup>2</sup>, Rivocharinala RASOANARIVO<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut Universitaire de Technologie et d'Agronomie de Mahajanga (IUTAM), Université de Mahajanga (UMG)  
benjaiba@yahoo.fr, leda.aisha@gmail.com

<sup>2</sup> Faculté des Sciences de Technologies et de l'Environnement (FSTE), Université de Mahajanga (UMG)  
harivo13@yahoo.fr, hranarijaona@gmail.com

<sup>3</sup> Ecole Doctorale des Ecosystèmes Naturels, Université de Mahajanga (UMG)

**RÉSUMÉ.** La mélanose ou black spot ou tache noire est un défaut visuel courant chez les crevettes. Elle affecte négativement la qualité esthétique ainsi que la valeur commerciale. Les consommateurs sont de plus en plus de méfiants sur les produits alimentaires contenant des additifs chimiques dont le métabisulfite de sodium (MBS) alors que c'est la meilleure option pour contrôler la mélanose chez les crevettes. Les objectifs de cette recherche sont d'identifier de nouveau produit de traitement contre la mélanose, évaluer la qualité des crevettes traitées (résidu de sulfite et qualité sensorielle) et évaluer l'efficacité des produits de traitement en termes de coût et de praticité d'utilisation. De ce fait, les produits alternatifs testés dans le cadre de cette recherche sont l'acide citrique, la Vitamine C et le Crustacel-Z (un produit cocktail). Une analyse des données a été faite. Pour les résultats, d'après l'ANOVA, les moyennes estimées de niveau de mélanose varient de 0 à 0,505 avec valeur de ( $F= 356,01$  ;  $p < 0,0001$ ) pour les différents traitements. La différence entre les moyennes de niveau de mélanose des différents traitements est significative. Une efficacité sur la prévention de la mélanose des crevettes avec le traitement Vitamine C similaire au traitement MBS a été constatée après trois mois de stockage. Bref, la Vitamine C est facile à utiliser. Elle n'est pas corrosive et n'entraîne pas de danger sur la santé et la sécurité des personnes le manipulant.

**ABSTRACT.** The black spot or black stain is a defect visual current among the shrimps. It affects the aesthetic quality as well as the commercial value negatively. The consumers are more and more distrustful on the food products containing chemical additives of which the sulphite of sodium (MBS) whereas it is the best option to control the black spot among the shrimps. The objectives of this research are to identify product of treatment again against the black spot, to value the quality of the shrimps treated (residual of sulphite and sensory quality) and to value the efficiency of the treatment products in terms of cost and convenient of use. Of this fact, the alternative products tested in the setting of this research are the citric acid, the Vitamin C and the Crustacel-Z (a product cocktail). An analysis of the data has been made. For the results, according to the ANOVA, the averages estimated of level of black spot vary from 0 to 0,505 with value of ( $F = 356,01$ ;  $p < 0,0001$ ) for the different treatments. The difference between the averages of level of black spot of the different treatments is meaningful. An efficiency on the prevention of the black spot of the shrimps with the treatment Vitamin C similar to the MBS treatment has been noted after three months of storage. In short, the Vitamin C is easy to use. It is not corrosive and don't drag a danger on health and the security of people manipulating it.

**MOTS-CLÉS.** Traitement, *Penaeus monodon*, sulfite, mélanose, Mahajamba Madagascar.

**KEYWORDS.** Treatment, *Penaeus monodon*, sulphite, black spot, Mahajamba Madagascar.

## 1. Introduction

En 2020, Madagascar a exporté 7662 tonnes de crevettes d'une valeur d'environ 332 milliards d'Ariary, ce qui représente plus de la moitié de la valeur totale des ressources halieutiques exportées (62,8%) et plus de 4% de la valeur totale d'exportation de Madagascar [MPE 21]. Ces résultats ont été acquis grâce à un travail laborieux des entreprises qui évoluent dans le secteur car la crevette est un

produit très sensible. L'exigence des consommateurs est telle que le moindre petit détail est scruté, la qualité est donc primordiale.

Durant l'Antiquité, les Grecs utilisaient les sulfites pour la conservation des boissons alcoolisées telles que la bière ou le vin, mais aussi pour désinfecter l'intérieur des maisons. Par la suite, il semblerait que les Américains soient les premiers à avoir défini les sulfites comme un additif alimentaire [TAY 86]. Testés contre la mélanose post mortem des crustacés, ces sels de l'acide sulfureux sont efficaces, et peu coûteux.

Actuellement, afin de limiter le développement du brunissement enzymatique, les sulfites sont autorisés dans de nombreuses matrices alimentaires telles que les fruits et les légumes, les champignons, et les crustacés qu'ils soient entiers ou transformés, ainsi que tous produits élaborés et les boissons alcoolisées (aux exceptions près mentionnées dans la réglementation). Ainsi, la population est exposée à la consommation indirecte de cet additif, qui lui est bien souvent méconnue.

La mélanose ou black spot (tache noire) est un défaut visuel courant chez les crevettes [MIG 10]. Elle est caractérisée par une décoloration ou un noircissement de la carapace de la crevette [OTW 92]. Même si elle n'est pas nocive pour la santé humaine, ce processus de noircissement entraîne un rejet du consommateur et constitue l'un des problèmes majeurs des industries car elle donne un aspect peu appétissant aux crevettes [NIR 09], [ALD 10], [GON 16].

Depuis les années 70, de plus en plus de cas d'allergies alimentaires ont été rapportés, avec une recrudescence des études dans le milieu des années 80 [TAY 86]. Ces incidents concernaient des consommateurs ayant mangé des produits conservés à l'aide de sulfites ou exposés aux sulfites durant leur travail. Les personnes les plus sensibles sont en général les populations asthmatiques. Les chercheurs semblent toujours partagés sur le fait de savoir si les sulfites provoquent une allergie alimentaire ou plutôt une réaction dite d'hypersensibilité [GRO 17].

Par conséquent, il est essentiel pour l'industrie des crevettes de trouver des moyens de prévenir ou de retarder l'apparition de la mélanose. Le traitement avec le métabisulfite de sodium, est actuellement la meilleure option pour contrôler la mélanose chez les crevettes [MAR 13]. De nombreux traitements alternatifs sont disponibles, vendus pour prévenir le noircissement mélanique des crevettes [ZEY 18]

Le présent article a pour objectifs d'identifier de nouveau produit de traitement contre la mélanose, évaluer la qualité des crevettes traitées (résidu de sulfite et qualité sensorielle) et évaluer l'efficacité des produits de traitement en termes de coût et de praticité d'utilisation.

La présente étude va mettre en évidence la méthodologie adoptée, détailler les résultats obtenus, suivis d'une discussion et d'une conclusion et perspectives.

## 2. Méthodologie

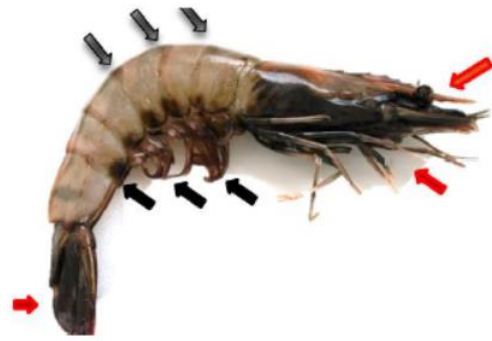
### 2.1. Généralités sur la mélanose

La mélanose (cf. figure 1 et figure 2), ou appelée communément « black spot », est un problème très courant chez les crustacés pendant le stockage post-récolte [NIR 11]

La Commission du Codex Alimentarius la définit, comme l'apparition de pigments foncés au niveau des articulations et des parties blessées des segments de crustacés, causée par des réactions enzymatiques oxydantes suivies d'une auto-oxydation et d'une polymérisation [ROT 02].



**Figure 1.** Crevette *Penaeus monodon* crue décongelée sans mélanose



**Figure 2.** Crevette *Penaeus monodon* crue décongelée après apparition de la mélanose

La coloration noire peut avoir deux sources. Soit elle est sécrétée, c'est la mélanine ; soit elle vient d'une source extérieure par l'infiltration dans les tissus de particules de charbon par inhalation (anthracose). Au cours de l'histoire, ce phénomène a été observé puis étudié chez différents organismes vivants tels que les champignons, les végétaux, les insectes et les crustacés [YOS 83], [PIN 30].

Généralement, la mélanose commence dans la carapace du céphalothorax, suivie de l'exosquelette abdominal et du céphalothorax, principalement dans les zones où les segments de la cuticule/carapace sont articulés et où la cuticule/carapace est jointe aux pléopodes, elle s'étend ensuite à la zone caudale - telson et aux uropodes [NIR 12], [OGA 84].

#### 2.1.1. Mode d'activation de mélanose

L'organisme mort se décompose, il s'altère sous l'effet de multiples facteurs. Parmi ces mécanismes de dégradation, le brunissement enzymatique enlaidit les crustacés par des taches noires (mélanose ou black spot).

Techniquement, les membranes cellulaires des crevettes mortes se rompent. L'oxygène rentre en contact avec le phénol que contiennent leurs cellules, ainsi qu'avec des enzymes polyphénol oxydases contenues dans leur céphalothorax [BOU 16].

Chez les crustacés, deux groupes de protéines sont capables de telles activités enzymatiques : les phénoloxydases elles-mêmes mais aussi l'hémocyanine [DEC 04], [DEC 07], [BAL 12].

Le taux de développement de la mélanose est significativement affecté par les facteurs suivants [GON 16] :

1. pH élevé du tissu musculaire ;
2. Température ;
3. Activité de l'eau ;
4. Présence d'oxygène ;
5. Présence de cuivre ;
6. Niveau élevé de substrat (tyrosine présente dans le corps des organismes) ;
7. Niveau d'enzyme en particulier le niveau de PPO dans le sang, la carapace, la tête et les jambes
8. Espèces de crustacés ;
9. Sexe ;
10. Saison, en particulier la période de mue ;
11. Origine géographique des crustacés ;

12. Facteurs technologiques (pratiques post-récolte) ; et

13. Contraintes mécaniques lors de la récolte [LUC 05].

Il est donc primordial de contrôler ces paramètres pour prévenir la mélanose chez les crevettes.

### 2.1.2. Traitements contre la mélanose

Les procédés communs pour inhiber les réactions de brunissement [BOU 16] sont :

- Élimination du substrat
- Modification du pH
- Modification de la température
- Utilisation des agents réducteurs

## 2.2. Généralités sur le métabisulfite de sodium (MBS)

### 2.2.1. Présentation de MBS

Le métabisulfite de sodium (MBS) est l'additif le plus largement (cf. tableau 1) et le plus efficacement utilisé pour prévenir la mélanose chez crustacés [BON 10], [LOP 04], [NIR 09]. Il se présente sous forme de fine poudre blanche à jaune. Il est utilisé comme agent de conservation et antioxydant dans les aliments.

| Dénomination            | Formule chimique                              | Famille  | Nomenclature Codex Alimentarius |                     | Références |             |
|-------------------------|---|----------|---------------------------------|---------------------|------------|-------------|
| Métabisulfite de sodium | Na <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S <sub>2</sub> | Sulfites | E223                            | Additif alimentaire | N° CAS     | 7681-57-4   |
|                         |   |          |                                 |                     | N° ECHA    | 100.028.794 |
|                         |   |          |                                 |                     | N° CE      | 231-673-0   |
|                         |   |          |                                 |                     | N° RTECS   | UX8225000   |
|                         |   |          |                                 |                     | PubChem    | 656671      |

Tableau 1. Classification de MBS

### 2.2.2. Cadre réglementaire de sulfite

Les limites réglementaires définies pour les résidus de sulfite dans les crevettes varient selon les pays. Pour les États-Unis, la Food and Drug Administration (FDA) l'a fixée à 100 ppm [FDA 01]. Pour l'Union européenne (UE), la limite maximale résiduelle (LMR) est définie par calibre (RUE N°1129/2011) (cf. tableau 2).

| Calibre    | 09.1.2 Mollusques et crustacés non transformés | 09.2 Poisson et produits de la pêche transformés (mollusques et crustacés) | Note     |
|------------|--|--|----------|
| < 80       | 150  | 135  | (3) (10) |
| [80 – 120] | 200  | 180  |          |
| > 120      | 300  | 270  |          |

Tableau 2. LMR en sulfites dans les crustacés de la famille Penaeidae



(Adapté du RÈGLEMENT (UE) N° 1129/2011 DE LA COMMISSION du 11 novembre 2011 modifiant l'annexe II du règlement (CE) n° 1333/2008 du Parlement européen et du Conseil en vue d'y inclure une liste de l'Union des additifs alimentaires.

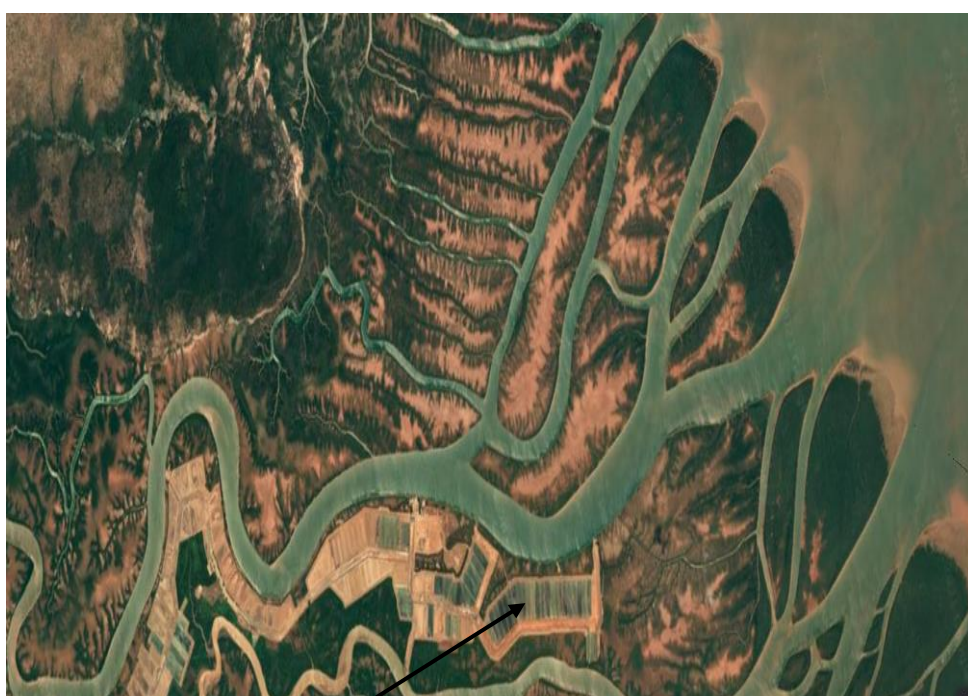
## Notes :

(3) : Les quantités maximales sont exprimées en SO<sub>2</sub> et se rapportent à la quantité totale disponible en tenant compte de toutes les sources ; le SO<sub>2</sub> en quantité n'excédant pas 10 mg/kg ou 10 mg/l n'est pas considéré comme présent.

(10) : Quantités maximales dans les parties comestibles.

### 2.3. Milieu d'étude

L'étude se déroule au sein de la société AQUALMA Mahajamba à Madagascar (cf. figure 3) pour une durée de 6 mois. Les sites de la Ferme de Mahajamba et de l'Usine de Besakoa, se trouvent dans la Commune Mahajamba, District Mahajanga II, Région Boeny. Cette Région est délimitée au Nord par la Région Sofia, à l'Est par la Région Betsiboka et au Sud par la Région Melaky.



Bassin d'élevage

**Figure 3.** Localisation de la zone d'étude

### 2.4. Matériel biologique

*Penaeus monodon* appartient à la classification suivante [PER 97] in [RAF 03] :

Embranchement : Arthropoda  
Superclasse : Crustacea (Pennant, 1777)  
Classe : Malacostraca (Latreille, 1806)  
Ordre : Decapoda (Latreille, 1803)  
Sous-ordre : Dendrobranchiata (Bate, 1888)  
Superfamille : Penaeoidea (Rafinesque-Schmaltz, 1815)  
Famille : Penaeidae (Rafinesque-Schmaltz, 1815)  
Genre : *Penaeus*  
Espèce : *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798)

## 2.5. Essai de traitement de substitution de MBS contre la mélanose

### 2.5.1. Description des produits de traitement

Les caractéristiques de chaque produit utilisé dans le cadre de cette recherche sont présentées dans le tableau 3.

| Type                    | Désignation                | Matière active /<br>Formule   | Aspect  | Fournisseur        | Origine   | Prix/kg (€) |
|-------------------------|----------------------------|---|---------|--------------------|-----------|-------------|
| Produit de substitution | Acide Citrique             | Acide citrique - E330   | Poudre  | SPCI<br>Madagascar | Chine     | 1,1         |
|                         | Vitamine C                 | Acide ascorbique –<br>E300  | Poudre  | SPCI<br>Madagascar | Chine     | 9,5         |
|                         | Crustacel-Z                | Acide citrique - E330<br>MBS (< 50%) - E223<br>Extrait de Thé vert                | Liquide | Labo DPA           | Espagne   | 6           |
| Témoin de référence     | Métabisulfite<br>de sodium | Na <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S <sub>2</sub> - E223<br>(SO <sub>2</sub> : 65,5%) | Poudre  | BASF               | Allemagne | 0,7         |

**Tableau 3.** Caractéristiques des produits de traitement

### 2.5.2. Protocoles du traitement

Les crevettes sont traitées conformément aux procédures de traitement et de conditionnement de l'usine à l'exception des protocoles relatifs aux tests de substitution de MBS. Les différents protocoles de traitement sont synthétisés dans le tableau 4.

| Type de protocole       | Produit de traitement      | Codification | Mode de traitement   |
|-------------------------|----------------------------|--------------|--|
| Témoin sans traitement  | Néant                      | Zéro         | Absence de traitement  |
| Produit de substitution | Acide Citrique             | AC           | Trempage dans le bain (<3°C) de solution d'Acide citrique de concentration à 3% durant 6 minutes |
|                         | Crustacel-Z                | CZ           | Trempage dans le bain (<3°C) de solution de Crustacel-Z de concentration à 4% durant 6 minutes   |
|                         | Vitamine C                 | Vit C        | Aspersion de solution (0°C) de Vitamine C de concentration à 1%                                  |
| Témoin de référence     | Métabisulfite<br>de sodium | MBS          | Trempage dans le bain (<3°C) de solution de MBS de concentration à 6% durant 6 minutes           |

**Tableau 4.** Différents protocoles de traitement

A chaque essai, 210 kg de crevettes fraîches ont été traitées par type de traitement. C'est la quantité de crevettes dans un bac isotherme. Pour les traitements AC et CZ, un bac de 70 l a été utilisé pour tremper les crevettes. Le volume de la solution préparée est de 50l, ce qui permet de tremper les crevettes de deux bacs perforés (7kg).

Les taux et les moyennes de niveau de mélanose sont analysés au cours des temps d'évaluation, ce sont :

- Après décongélation : 0 h crue
- Après cuisson : 0 h cuite
- Après 24 h de stockage sous glace
- Après 48 h de stockage sous glace

### 2.5.3. Expertise pour contrôle de mélanose

#### 2.5.3.1. Etapes de préparation des échantillons pour expertise de mélanose

Cette étape permet de :

- Décongeler les crevettes dans un bain d'eau à température ambiante jusqu'à ce qu'elles atteignent 3°C à cœur. Mettre les crevettes dans un bac perforé et les couvrir de glace et les contrôler pour vérifier visuellement s'il y a de la mélanose en référant avec le catalogue de mélanose (cf. figure 6). Le temps d'évaluation est identifié comme 0 h crue. Les crevettes sont à maintenir à température à cœur à 3°C avec une tolérance maximale à 6°C.
- Cuire les crevettes dans de l'eau bouillante pendant 3 mn. Refroidir les crevettes dans un bain d'eau glacée jusqu'à avoir une température à cœur à 3°C. Contrôler individuellement les crevettes pour vérifier visuellement (cf. figure 6) s'il y a de la mélanose. Le temps d'évaluation est identifié comme 0 h cuite.
- Mettre les crevettes cuites refroidies dans un sachet plastique et disposer dans un bac perforé. Le sachet plastique protège les crevettes pour éviter le lessivage du produit de traitement par la glace fondante. Mettre de la glace dans le bac perforé afin de recouvrir totalement le sachet contenant les crevettes. Mettre tous les bacs contenant les échantillons à expertiser dans un bac isotherme et les stocker.
- Après 24h de stockage sous glace, sortir les bacs perforés du bac isotherme pour contrôler la mélanose sur les crevettes. Le temps d'évaluation est identifié comme 24 h. Remettre les crevettes dans le sachet puis, placer ledit sachet dans un bac perforé à recouvrir de la glace. Replacer tous les bacs contenant les échantillons de test dans le bac isotherme.
- Répéter l'opération ci-dessus le lendemain et le temps d'évaluation est identifié comme 48 h.

#### 2.5.3.2. Evaluation de la mélanose

A chaque temps d'évaluation (0 h crue, 0 h cuite, 24 h et 48 h), 50 crevettes sont contrôlées individuellement afin de :

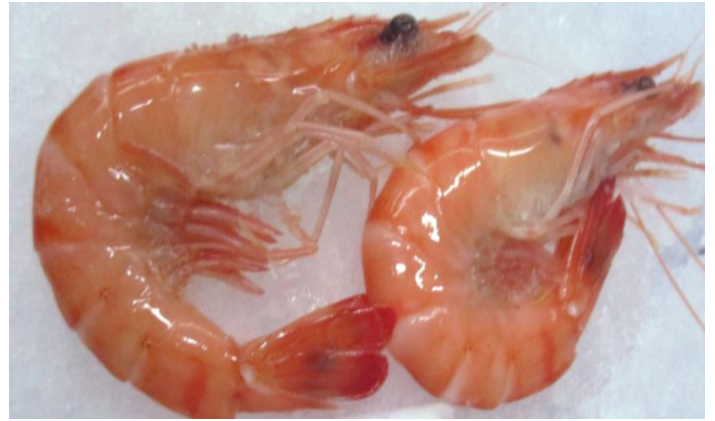
- Vérifier tout le corps de chaque individu pour voir s'il y a apparition de la mélanose.
- Evaluer le niveau de la mélanose selon une échelle de 0 à 3 selon leur catalogue des figures présentées aux figures 4, 5, 6 et 7.
- Séparer les crevettes selon leur niveau de mélanose et les compter à la fin du contrôle des 50 crevettes.



**Crevette crue**



**Crevette cuite**



**Figure 4.** *Catalogue de niveau de mélanose niveau 0*



**Figure 5.** *Catalogue de niveau de mélanose niveau 1*



**Figure 6.** *Catalogue de niveau de mélanose niveau 2*





**Figure 7.** Catalogue de niveau de mélanose niveau 3

Après 1 semaine et 3 mois de stockage en chambre froide, les échantillons de produits finis ont été expertisés pour contrôler l'apparition des mélanoses. Les crevettes de calibre 40/60 sont prises pour cette expertise parce que c'est le calibre moyen de la production afin de représenter la population générale des crevettes.

## 2.6. Analyse des données

Pour le traitement des données, deux tests statistiques ont été utilisés : Test de Khi-deux et Test d'ANOVA.

### 2.6.1. Moyenne de niveau de mélanose sur les crevettes

La moyenne de niveau de mélanose sur les crevettes est le rapport entre la somme d'individus des crevettes ayant de mélanose et le nombre de valeurs dans la distribution. Elle a une formule suivante :

$$\text{Moyenne de niveau de mélanose} = \bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad [1]$$

$\bar{x}$  : Moyenne de niveau de mélanose sur les crevettes

$x$  : Somme d'individus des crevettes ayant de mélanose

$n$  : Nombre de valeurs dans la distribution

### 2.6.2. Test de Khi-deux

Les valeurs  $\chi^2$  sont obtenues par l'application de la formule suivante (Johnson, 1992) :

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(o_i - c_i)^2}{c_i} \quad [2]$$

Le degré de liberté (d.d.l) = (Nombre de ligne – 1) (Nombre de colonne – 1).

$o$  : fréquence observée

$c$  : fréquence calculée ou théorique

### 2.6.3. Test d'ANOVA

En statistique, l'analyse de la variance (terme souvent abrégé par le terme anglais ANOVA : analysis of variance) est un ensemble de modèles statistiques utilisés pour vérifier si les moyennes des groupes proviennent d'une même population.

Pour cette analyse, les hypothèses suivantes ont été établies :

- Hypothèse  $H_0$  : il n'existe pas de différence significative entre les moyennes.
- Hypothèse  $H_1$  : il existe une différence significative entre les moyennes.

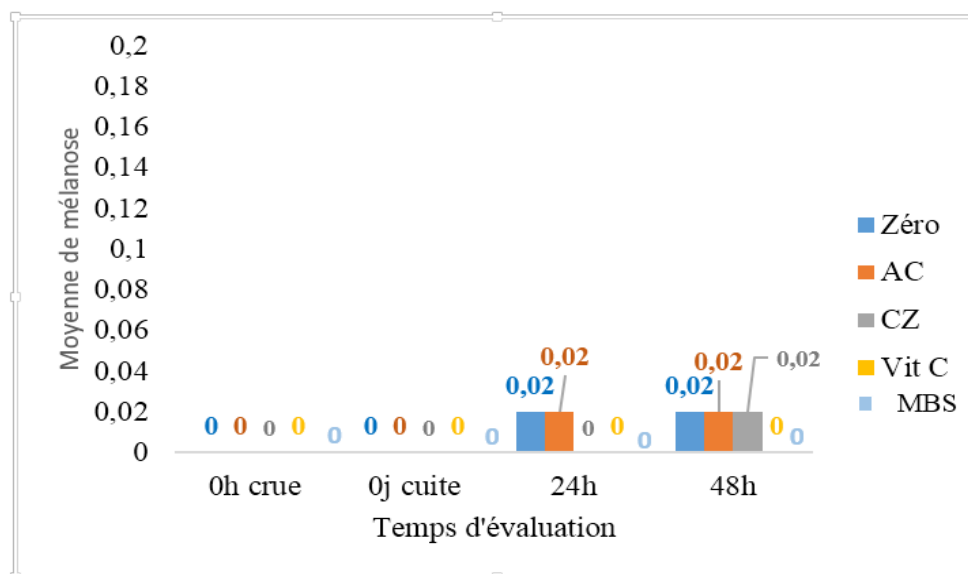
Si la valeur calculée de F (ANOVA) est supérieure à la valeur théorique ou si probabilité  $p < 0,05$ , l'Hypothèse  $H_0$  est rejetée. Il existe une différence significative entre les moyennes.

Si la valeur calculée de F (ANOVA) est inférieure à la valeur théorique ou si probabilité  $p > 0,05$ . Il n'existe pas de différence significative entre les moyennes.

## 3. Résultats

### 3.1. Evolution du taux de mélanose sur les crevettes après 1 semaine de stockage

La figure 8 montre l'évolution des moyennes de niveau de mélanose au cours des temps d'évaluation.

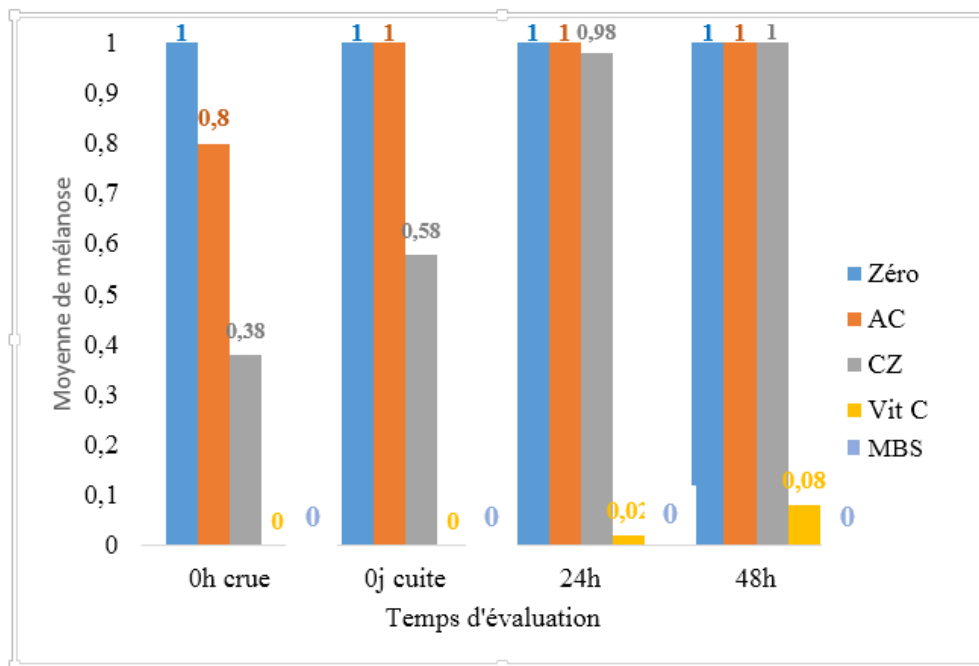


**Figure 8.** Evolution de la moyenne de niveau de mélanose sur les crevettes par type de traitement

Seulement après décongélation (0h crue) et après cuisson (0h cuite), les types de traitement sont au niveau 0 de mélanose.

### 3.2. Evolution du taux de mélanose sur les crevettes après 3 mois de stockage

La figure 9 montre l'évolution des moyennes de niveau de mélanose au cours des temps d'évaluation



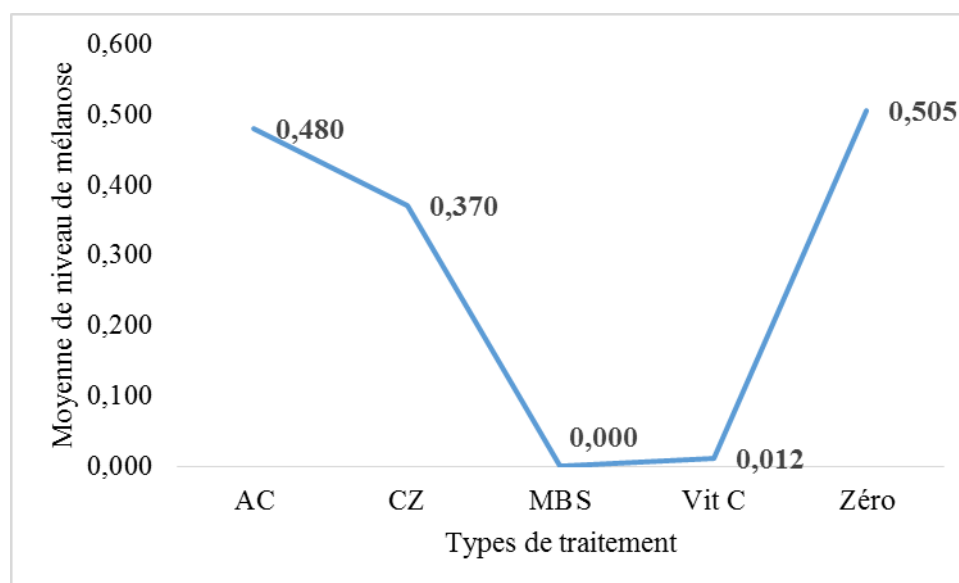
**Figure 9.** Evolution de la moyenne de niveau de mélanose sur les crevettes par type de traitement après 3 mois de stockage

Seule la moyenne du niveau de mélanose pour MBS reste à 0 jusqu'à 48h, ce qui correspond à l'absence de mélanose jusqu'à 48h de stockage.

### 3.3. Analyse de variance des moyennes de mélanose

#### 3.3.1. Pour les types de traitement

Les moyennes estimées du niveau de mélanose des différents traitements sont présentées dans la figure 10.

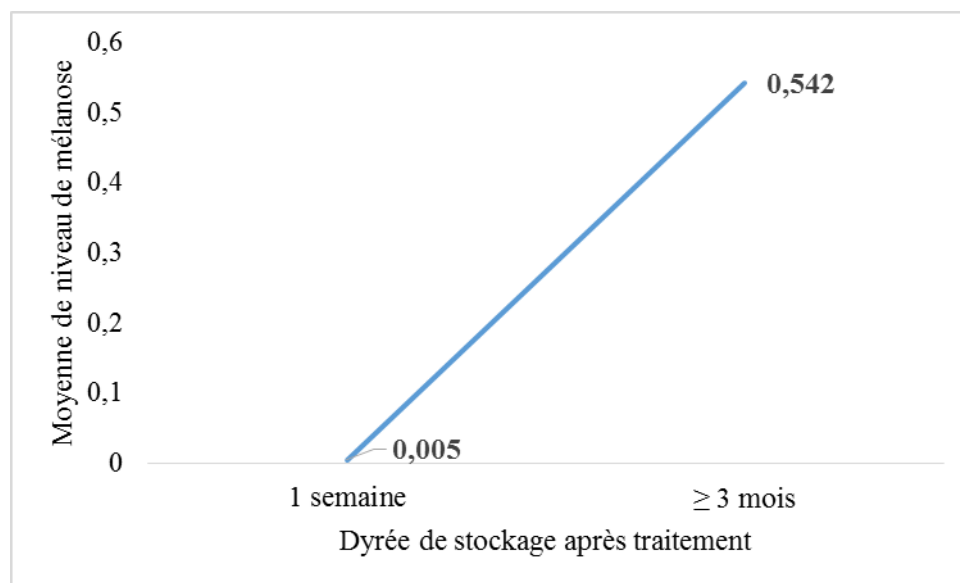


**Figure 10.** Niveau de mélanose entre les différents traitements

D'après l'ANOVA, les moyennes estimées de niveau de mélanose varient de 0 à 0,505 avec valeur de ( $F= 356,01$  ;  $p < 0,0001$ ) pour les différents traitements. L'hypothèse  $H_0$  est rejetée, il existe une différence très significative entre les moyennes de niveau de mélanose des différents traitements.

### 3.3.2. Pour la durée de stockage après traitement

Les moyennes estimées de niveau de mélanose des durées de stockage sont présentées dans la figure 11.



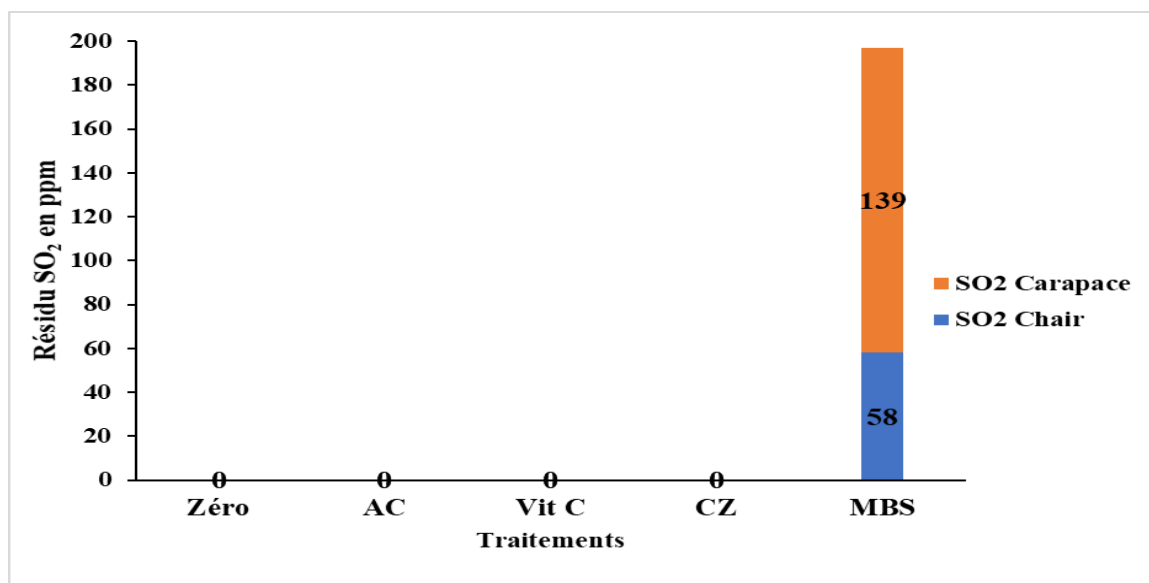
**Figure 11.** Niveau de mélanose entre les durées de stockage

D'après l'ANOVA, les moyennes estimées de niveau de mélanose varient de 0,005 à 0,542 avec valeur de ( $F= 1893,77$  ;  $p < 0,0001$ ) pour les durées de stockage. Le brunissement enzymatique entraînant des taches noires ou mélanoses a commencé de la carapace jusqu'à l'intérieur des crevettes plus précisément du l'exosquelette abdominal et du céphalothorax. Plus le temps de stockage augmente, plus les mélanoses apparaissent. Il serait intéressant de connaître aussi le temps de début de ces réactions enzymatiques afin de définir le temps maximal avant traitement. Alors l'hypothèse  $H_0$  est rejetée, il existe une différence très significative entre les moyennes de niveau de mélanose des durées de stockage après traitement.

### 3.4. Résidu de sulfite dans les crevettes

Les moyennes du taux résiduels en sulfite dans la chair et dans la carapace des crevettes des différents types de traitement sont présentées dans la figure 12 :





**Figure 12.** Taux de résidu de SO<sub>2</sub> dans les crevettes traitées

Le taux de sulfite dans les crevettes traitées au MBS est en moyenne à 58 ppm dans la chair et 139 ppm dans la carapace. Les trois protocoles de traitement pour substitution de MBS montrent un résultat similaire au témoin sans traitement.

### 3.5. Approche du compte de résultats des produits de traitement de substitution de MBS

Les caractéristiques de chaque produit utilisé dans le cadre de cette recherche sont présentées dans le tableau 5.

| Désignation    | Quantité crevettes traitées | Dose | Quantité de produit utilisé | Prix/kg (€) | Prix total (€) |
|----------------|-----------------------------|------|-----------------------------|-------------|----------------|
| Témoin 0       | 210 kg                      | -    | -                           | -           | -              |
| Acide Citrique | 210 kg                      | 3%   | 7,5 kg                      | 1,1         | 8,25           |
| Vitamine C     | 210 kg                      | 1%   | 0,7 kg                      | 9,5         | 6,65           |
| Crustacel-Z    | 210 kg                      | 4%   | 10 litres                   | 6           | 60             |
| Métabisulfite  | 210 kg                      | 4%   | 8 kg                        | 0,7         | 5,6            |

**Tableau 5.** Approche du compte de résultats des produits de traitement de substitution de MBS

D'après ce tableau, la vitamine C est un produit de la substitution de MBS moins cher par rapport aux autres produits de substitution. Pour traiter 210 kg de crevettes,

## 4. Discussion

Pendant la congélation, les enzymes responsables de la mélanose deviennent inactives, mais une fois décongelées. Ces enzymes dans l'hémolymphe et les glandes digestives sont facilement libérées et activées, s'il y a un substrat adéquat, développant rapidement une mélanose [NIR 10]. Les fluctuations de température et l'interruption de la chaîne du froid facilitent les processus de détérioration enzymatiques et microbiologiques.

Différents facteurs influencent la mélanose, tels que l'espèce (niveau de substrat et d'enzyme), le sexe, la manipulation pendant la récolte et le stockage, la saison (période de mue), les températures élevées, le pH du muscle (le PPO est actif dans des conditions alcalines), la quantité de libre tyrosine

(plus de tyrosine libre indique plus de développement de mélanose), présence de l'oxygène et le cuivre (le cuivre fait partie de la réaction PPO) et l'origine géographique [GON 16].

Pour la congélation en dessous de - 18 °C, elle est souvent utilisée pour conserver les aliments. Cela n'inhibe pas les phénoloxydases mais les maintient en inactivité jusqu'à la décongélation [ROT 02].

Même les crevettes congelées ont développé des taches noires après décongélation. Pendant la congélation, les enzymes responsables de la mélanose deviennent inactives. Mais une fois décongelées, ces enzymes dans l'hémolymphe et les glandes digestives sont facilement libérées et activées, s'il y a un substrat adéquat, développant rapidement une mélanose [NIR 10].

Les composés considérés comme « acidifiants » n'ont montré aucune inhibition sur l'activité des protéines à activités POs, à l'exception de l'acide ascorbique pour lequel seulement 20 % d'inhibition a été obtenu. Ceci semble logique dans la mesure où le test a été réalisé en milieu fortement tamponné, limitant l'impact de ces molécules. Les composés synthétiques analogues de structure avec les substrats, l'acétophénone, la gallacétophénone et le 5-hydroxyindole ont montré une diminution de l'activité des protéines à activités POs d'environ.

Un meilleur résultat a été trouvé à 0h crue et 0h cuite qu'après 24 h et 48 h de stockage sous glace. Le traitement de référence MBS reste le protocole le plus efficace pour la prévention contre la mélanose. Il est de même un meilleur résultat après 1 semaine de stockage qu'après trois mois de stockage sauf pour le traitement Vit C. Le taux résiduel en sulfite est largement en dessous des limites maximales de résidus définies par les réglementations, 150 ppm pour l'UE (RUE 1129/2011) et 100 ppm pour les USA.

Le dioxyde de soufre et ses sels sont utilisés depuis la Grèce antique à des fins de conservation [ROT 02].

Actuellement, les consommateurs préfèrent remplacer les composés inorganiques des additifs alimentaires par des substances naturelles, qui sont largement acceptées sur le marché actuel. Il ne fait aucun doute que le métabisulfite, appliqué en solution, retarde la formation de points noirs. Cela a un effet plus important à des concentrations élevées (testées à 5%) bien que la pigmentation naturelle de la coquille soit réduite par le blanchiment. Le blanchiment n'a pas eu lieu avec les traitements formulés tels que Hasenosa, Pluscolour et Melacide SC22 en raison de la concentration réduite en sulfites. Ces produits sont une solution alternative de métabisulfite. Une autre étude sera en cours pour bien confirmer cette hypothèse. En outre, il est probable que le blanchiment au sulfite soit contrôlé dans ces traitements par l'incorporation d'ingrédients tels que l'acide citrique et l'acide ascorbique, qui agissent comme des rehausseurs de couleur. Lorsque ces acides ont été testés indépendamment, l'amélioration de la couleur a été masquée par le développement rapide de points noirs.

## 5. Conclusion

La sulfitation est une pratique courante dans l'industrie des crustacés. Elle est utilisée par les professionnels pour améliorer la qualité commerciale de leurs produits en retardant le noircissement enzymatique qui est défavorable à la qualité organoleptique des crustacés. Dans l'intention de protéger la santé du consommateur, les sulfites sont appliqués d'une manière appropriée à bord en utilisant une concentration sulfite/crustacés de 2 %.

Pour protéger la santé publique du danger des sulfites et assurer un produit salubre aux consommateurs, surtout les personnes sensibles, il faut envisager l'introduction de produits alternatifs aux sulfites qui permettent de prévenir le phénomène de mélanose tout en étant inoffensifs pour la catégorie de consommateurs sensibles, de réaliser des études plus poussées sur la fréquence d'utilisation des sulfites dans les crevettes vendues en vrac et dans d'autres produits alimentaires et d'interdire l'accès libre aux produits à base de sulfites.

La mélanose ou black spot (tache noire) est un défaut visuel courant chez les crevettes. Elle est caractérisée par une décoloration ou un noircissement de la carapace de la crevette. Cette mélanose affecte négativement la qualité esthétique ainsi que la valeur commerciale. Même si elle n'est pas nocive pour la santé humaine, ce processus de noircissement entraîne un rejet du consommateur, et constitue l'un des problèmes majeurs des industries car elle donne un aspect peu appétissant aux crevettes.

Chez les crevettes, le traitement avec des conservateurs de type sulfite, dont le métabisulfite de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ), est actuellement la meilleure option pour contrôler la mélanose. Mais les consommateurs sont de plus en plus de méfiance sur les produits alimentaires contenant des additifs chimiques dont le métabisulfite de sodium.

Il est important d'aborder la question des effets potentiels de tels conservateurs sur la santé humaine. En effet, il faut être très vigilant. L'idée ici est d'appliquer des inhibiteurs. Ces résultats d'inhibition ont été obtenus pour des essais réalisés *in vitro*. Or, les tests de trempage effectués précédemment ont montré la difficulté de corréliser l'efficacité de certaines molécules obtenues *in vitro* avec les résultats observés à l'échelle de la matrice entière. En effet, plusieurs éléments sont à prendre en compte en plus des principes actifs en soi, comme la capacité des molécules à pénétrer la matrice et les conditions d'application du mélange telles que la température, la durée d'immersion, et le pH global de la solution. Ainsi, en plus des dosages réalisés *in vitro*, les tests de trempage se révèlent être indispensables pour conclure sur l'efficacité finale du mélange. A cette échelle, cela permet également de déterminer l'impact du produit ajouté sur l'aspect final de l'aliment (couleur, texture, odeur).

Le traitement avec la Vitamine C donne un résultat similaire à celui du témoin de référence MBS. Des cas de mélanose sont observés mais à des niveaux acceptables. La Vitamine C se trouve dans la liste positive des additifs autorisés par la réglementation BIO, les référentiels Label Rouge et ASC. Il n'a pas de résidu de sulfite dans la chair et dans la carapace des crevettes traitées avec la Vitamine C. Et d'après l'étude des dépenses, la Vitamine C est un produit de substitution moins cher par rapport aux autres produits. Mais elle peut remplacer le témoin de référence MBS. Ce dernier est un produit très volatile et corrosif constituant un danger pour la santé humaine en cas d'inhalation et aussi une allergie possible pour les personnes sensibles aux sulfites. Et le traitement Vit C coûte +3 € (Vit C : 33 €/T et MBS : 30 €/T) par tonne de crevettes par rapport au traitement MBS. Mais cela pourrait être largement compensé par l'aspect praticité d'utilisation, de manutention et de stockage. En plus, il est facile à utiliser et n'entraîne pas de danger sur la santé et la sécurité des personnes le manipulant à l'utilisation.

A travers les études présentées ici, il n'est pas évident de trouver un composé unique d'origine naturelle qui soit aussi efficace que les sulfites, sain pour les consommateurs, à un prix de revient abordable et qui ne modifierait pas le goût ni l'aspect du produit. Cette recherche a été menée durant six mois (6) alors que la durée de vie de crevettes surgelées est de vingt-quatre (24) mois. Il serait donc intéressant de poursuivre ces travaux pour confirmer les résultats donnés par le traitement par la Vitamine C durant la durée de vie totale des crevettes surgelées.

## Bibliographie

- [ALD 10] Alday-Sanz, A standardised white spot disease challenge test to evaluate the efficacy of a biocide. Laboratory of virology, *Faculty of Veterinary Medicine Belgium*. P31-33. 2010
- [BAL 12] Ballarin L., Franchi N., Schiavon F., Tosatto S.C.E., Mičetić I., and Kawamura K. Looking for putative phenoloxidases of compound ascidians: Haemocyanin-like proteins in *Polyandrocarpa misakiensis* and *Botryllus schlosseri*. *Developmental & Comparative Immunology* 38 (2):232-242. [En ligne] <https://doi.org/10.1016/j.dci.2012.05.008> (Consulté le 12/04/2022). 2010
- [BON 10] Bono G., Badalucco C.V., Cusumano S., et Palmegiano G.B.. Toward shrimp without chemical additives: A combined freezing-MAP approach. *LWT - Food Science and Technology* 46 (1):274-279. doi: 10.1016/j.lwt.2011.09.020. 2010

- [BOU 16] Bouquelet S., Protéines alimentaires. EMM, *Université de Lille, Sciences et Technologies*, 43P. 2016
- [DEC 04] Decker H., and Jaenicke E., "Conversion of crustacean hemocyanin to catecholoxidase." *Micron* 35 (1):89-90. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2003.10.027>. 2004.
- [JAE 04] Jaenicke E., and Decker H., Conversion of crustacean hemocyanin to catecholoxidase. *Micron* 35 (1):89-90. [En ligne]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2003.10.027> (Consulté le 12/04/2022) 2016
- [DEC 07] Decker H., T. Schweikard, Nillius D., Salzbrunn U., Jaenicke E., et Tuczec F., Similar enzyme activation and catalysis in hemocyanins and tyrosinases. *Gene* 398 (1-2):183-91. doi: 10.1016/j.gene.2007.02.051. 2016
- [FDA 01] FDA (U.S. Food and Drug Administration). (2001). Food and Color Additives. Ch. 19. In *Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance*, 3rd ed., p. 237-248. Food and Drug Administration, *Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood, Washington, DC*. 2001.
- [GON 16] Gonçalves A.A. et De Oliveira A.R.M., Melanosis in crustaceans: *A review*. *LWT - Food Science and Technology* 65:791-799. 2016
- [GRO 17] Grotheer P., Marshall M., et Simonne A., Sulfite hypersensitivity. *A critical review*, 63p. 2017
- [JOH 92] Johnson, Bio-écologie et abondance du rôle d'olivier *Amaurornis olivieri* (grandidier et Berlioz 1929) dans l'aire protégée de Mandrozo, District de Maintirano, Région Melaky Madagascar. *Mémoire de diplôme d'études approfondies*. 1992
- [LOP 04] Lopez-Caballero, M. E., Martínez-Álvarez, Ó Gómez-Guillén, M. del C., & Montero, P., Quality of Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) treated with a 4-hexylresorcinol-based formulation. *European Food Research and Technology*, 222(3), 425e431. 2004
- [LUC 05] Lucien-Brun H., "Preventing melanosis in shrimp," *Global Aquaculture Advocate*, Available : <https://www.aquaculturealliance.org/advocate/preventing-melanosis-in-shrimp/>. 2005.
- [MAR 13] Marco I., Aurelia Di Taranto & Anna Rita Ientile, Sulphur dioxide in meat products: 3-year control results of an accredited Italian laboratory. Accepted author version posted online: 19 Jan 2017, Published online: 29 Jan 2017 104p. 2013.
- [MIG 10] Miget R. J., Shellfish Handling Practices – Shrimp and Molluscs. *Southern Regional Aquaculture Center*. 6P. 2010
- [GOM 05] Gómez- Guillén M.C., Martínez- Alvarez O., Llamas A., et Montero P., Melanosis inhibition and SO2 residual levels in shrimps (*Parapenaeus longirostris*) after different sulfite- based treatments. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85 (7):1143-1148. 2005.
- [MPE 21] MPEB, Simple and hardware-efficient row-based direct-mapping estimators in fixed-width modified Booth multipliers. Chen et al. presented a flexible compensation method to achieve fine-tuning of the accuracy in FWBM with the conditional probability of bottom, 2021.
- [NIR 09] Nirmal N.P. et Benjakul S. Melanosis and quality changes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) treated with catechin during iced storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (9):3578-86. doi: 10.1021/jf900051e. 2009.
- [NIR 10] Nirmal N.P. et Benjakul S. Évolutions de la mélanose et de la qualité de la crevette blanche du Pacifique (*Litopenaeus vannamei*) au cours de sa conservation sous glace fondante, après traitement par la catéchine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010.
- [NIR 11] Nirmal, N. P., & Benjakul, S., Inhibition of melanosis formation in Pacific white shrimp by the extract of lead (*Leucaena leucocephala*) seed. *Food Chemistry*, 128(2), 427e432. 2011.
- [NIR 12] Nirmal, N. P., & Benjakul, S., Biochemical properties of polyphenoloxidase from the cephalothorax of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *International Aquatic Research*, 4(6), 1e13. 2012.
- [OGA 84] Ogawa, M., Perdigão, N. B., Santiago, M. E., & Kozima, T. T., On physiological aspects of black spot appearance in shrimp. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fisheries*, 50, 1763e1769. 1984.
- [OTW 92] Otwell W.S., Iyengar R. et McEvily A.J. Inhibition of shrimp melanosis by 4-hexylresorcinol. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 1 (1):53-65. 1992.
- [PER 97] Perez F. et Kensley B., Penaeoid and Sergestoid Shrimps and Prawns of the World: Keys and Diagnoses for the Families and Genera. *Mémoire du Muséum nationale d'Histoire naturelle, tome I pp. 175-233*. 1997.
- [PIN 30] Pinhey K.G., Tyrosinase in crustacean blood. *Journal of Experimental Biology* 7 (1) :19-36. 1930.



- [RAF 03] Rafalimanana T., Les crevettes pénaïdes exploitées sur la côte Ouest de Madagascar : Variabilité spatio-temporelles des paramètres biologiques et dynamique des populations. *Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat de l'ENSAR. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes. 243p. 2003.*
- [ROT 02] Rotllant G., Arnau F., Garcia J.A., Garcia N., Rodriguez M. et Sarda F., Note. Effect of metabisulphite treatments and freezing on melanosis inhibition in Rose Shrimp *Aristeus antennatus* (Risso, 1816). *Food Science and Technology International* 8 (4):243-247. doi: 10.1177/1082013202008004084. 2002.
- [TAY 86] Taylor S.L., Higley N.A., and Bush R.K., Sulfites in Foods: Uses, Analytical Methods, Residues, Fate, Exposure Assessment, Metabolism, Toxicity, and Hypersensitivity. *Advances in Food Research* 30:1-76. [En ligne]. [http://dx.doi.org/10.1016/S00652628\(08\)60347-X](http://dx.doi.org/10.1016/S00652628(08)60347-X). (Consulté le 12/04/2022). 1986.
- [YOS 83] Yoshida H., Chemistry of lacquer (Urushi). Part I. Communication from the chemical society of Tokio. *Journal of the Chemical Society, Transactions* 43:472486. 1983.
- [ZEY 18] Zeyer E., Inhibition de la mélanose post-mortem chez la crevette *Penaeus monodon*:  tude des activités enzymatiques ph noxydases et recherche de conservateurs alternatifs aux sulfites. *Science des productions animales. Université du Littoral Côte d'Opale, Français. NNT: 2018DUNK0477. tel-01976907, 202p. 2018.*