

Effets de la congélation sur le profil protéique des filets de la Dorade royale (*Sparus aurata*): comparaison entre le poisson sauvage et d'élevage

Mourad Attouchi* et S. Sadok*

Institut National des Sciences et Technologies de la Mer, Centre La Goulette, La Goulette, 2060, Tunisie.

*mourad.attouchi@instm.nrnt.tn

*salwa.sadok@instm.nrnt.tn

ملخص

دراسة تأثير التجميد على التخطيط البروتيني لشرايح سمك الوراثة (*Sparus aurata*): مقارنة بين الأسماك الطبيعية والمستزرعة: خلال هذه الدراسة، وقع تتبع تغييرات التركيبة البروتينية (البروتينات العضلية الليفية MFP والهوليوية SPP) عند مجموعتين من شرايح أسماك الوراثة (الطبيعية والمستزرعة) المخزنة في -18 درجة مئوية لمدة أربعة أشهر، وذلك باستعمال طريقة الرحلان الكهربائي. في فترة ما قبل الخزن، لم تبرز التحاليل أية اختلافات جوهرية في التركيبة البروتينية بين المجموعتين. خلال مدة التجميد، أثبتت تحاليل الكثافة الضوئية حصول تغييرات طفيفة في تركيبة البروتينات MFP و SPP عند المجموعتين متصلة بمصدر الإنتاج (صيد/استزراع) و تقدم مدة الخزن. وتجدر الملاحظة أن هذه التحولات الطفيفة قد سجلت بصفة متقدمة في الزمن عند الأسماك المستزرعة وبصفة خاصة في البروتينات الليفية MFP، حيث لوحظ تغير في الكثافة الضوئية للبروتينات ذات الوزن الجزيئي (70، 23، 16، 10 كيلودالتون) بداية من الشهر الأول من فترة التجميد عند الأسماك المستزرعة، في حين لوحظت مثل هذه التحولات في البروتينات ذات الوزن الجزيئي (75، 60، 37، 18 كيلودالتون) ابتداء من الشهر الثاني لنفس هذه الفترة عند الأسماك الطبيعية. أظهرت هذه النتائج أن شرايح الوراثة الطبيعية بدت أكثر مقاومة لظواهر اختلال وتحلل البنية البروتينية العضلية، أثناء التجميد، مقارنة بالأسماك المستزرعة.

الكلمات المفتاحية: الوراثة (*Sparus aurata*)، الأسماك الطبيعية والمستزرعة، الرحلان الكهربائي للبروتينات.

RESUME

Les variations des profils électrophorétiques des protéines sarcoplasmiques (SPP) et myofibrillaires (MFP) chez les filets de la Dorade royale d'origine sauvage et d'élevage congelés à -18°C ont été suivies durant 4 mois de stockage. A l'état frais, la différence de l'origine de production de la Dorade (sauvage/aquaculture) n'a pas illustré de distinctions particulières dans les profils protéiques des filets. Durant le stockage congelé, l'analyse densitométrique des profils MFP et SPP chez les deux populations de Dorade a permis de discerner des modifications mineures liées à l'origine de production du poisson et à la progression du temps de stockage. Ces faibles changements, notamment dans la fraction MFP, ont été plus précoces chez la Dorade d'élevage. En effet, ces variations ont touché, dès le premier mois de congélation, la densité optique des peptides de faibles poids moléculaires (70, 23, 16 et 10 kDa) de la Dorade d'élevage, alors que les premières modifications touchant les bandes de 75, 60, 37 et 18 kDa chez la Dorade sauvage ont été détectées à partir du deuxième mois de stockage. Les analyses électrophorétiques ont montré que, lors de la congélation, les dorades sauvages sont plus résistantes aux phénomènes de désorganisation et de dénaturation des protéines musculaires que leurs congénères d'élevage.

Mots clés : *Sparus aurata*, poissons sauvages et d'élevage, congélation, électrophorèse des protéines.

ABSTRACT

Effect of frozen storage on protein profile of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) filets: comparison between wild and farmed fish : Changes in electrophoretic profiles of sarcoplasmic (SPP) and myofibrillar (MFP) proteins of frozen (-18°C) wild and farmed gilthead sea bream filets were assessed during 4 months of storage. Initially, no specific distinctions in the protein profiles were found between wild and farmed fresh fish filets. Throughout frozen storage, densitometric analysis of MFP and SPP profiles showed minor modifications, particularly in MFP fraction, related to the origin of fish and time of storage. Thus, the optical density of farmed fish low molecular weight peptides (70, 23, 16 and 10 kDa) were affected after 1 month of frozen storage, such changes were observed after 2 months in the wild fish bands of 75, 60, 37 and 18 kDa. The electrophoretic analysis showed that wild sea bream filets were more resistant to muscle protein disorganization and denaturation, occurring during frozen storage, than farmed fish.

Keywords: *Sparus aurata*, wild and farmed fish, freezing, protein electrophoresis.

INTRODUCTION

Due à leur haute altérabilité, la qualité et la durée de conservation des produits de la mer sont restreintes et sont tributaires de plusieurs facteurs comme les procédures de manipulation pré et/ou post-mortem et leur origine de production. L'amélioration de la stabilité de la qualité des produits de la mer conduit à un important impact économique en réduisant les pertes dues à l'altération et en permettant au produit d'accéder à des nouveaux marchés plus éloignés. Le stockage congelé est considéré comme étant la seule méthode de préservation utilisée à large échelle, qui facilite l'export et minimise la variation de l'approvisionnement des poissons crus (Persson & Londahl, 1993). Ce type de stockage est utilisé principalement pour maintenir la qualité sensorielle et les propriétés nutritionnelles du poisson (Pigott & Tucker, 1987; Erickson, 1997).

La Dorade royale est une espèce à fort potentiel commercial. Actuellement, la production globale de la Dorade royale a atteint les 153 milles tonnes dont plus de 90% est obtenue par l'aquaculture (FAO, Globefish, 2012). En Tunisie, la production de la Dorade royale sauvage n'a pas connu de croissance notable restant fluctuante durant la période 2000-2010 avec une moyenne de 516 tonnes/an (DGPA, 2010). En revanche, et durant la même période, la production aquacole de la Dorade en Tunisie s'est multipliée presque par six, passant de 410,5 tonnes en 2000 à presque 2400 tonnes actuellement (DGPA, 2010). Cette espèce de poisson est généralement commercialisée à l'état frais ou réfrigéré sous glace. Toutefois, la congélation peut être également une alternative pour commercialiser ce produit et régler son prix de vente durant la période d'excès de production (juin à janvier), ainsi qu'accéder à d'autres marchés plus éloignés (Tejada et al., 2003; Huidobro & Tejada, 2004; Makri, 2009). Il est bien connu que comparé au poisson frais, le poisson congelé perd incontestablement de sa qualité initiale (Mackie, 1993; Makri, 2009). La perte de la qualité est principalement due aux changements de l'intégrité du muscle, des protéines et des lipides. En outre, les produits de l'oxydation lipidique interagissent avec les protéines conduisant à leur dénaturation (Mackie, 1993) et à la modification de leurs profils électrophorétiques (Saeed & Howell, 2002) et par conséquent à la perte des propriétés nutritionnelles du poisson (Castrillon et al., 1996). En effet, les changements rencontrés lors de la congélation sont dépendants de plusieurs facteurs tels que l'espèce du poisson, sa qualité initiale, son état biologique et sa composition biochimique, la vitesse de la congélation, le temps et la température de la congélation ainsi que la prévention contre l'oxydation (effet de l'oxygène et/ou de la lumière) (Haard, 1992; Sigholt et al., 1997; Undeland & Lingnert,

1999; Kristoffersen et al., 2006; Nielsen & Jessen, 2007).

Malgré les nombreuses études comparatives concernant l'altération de la qualité post-mortem de la Dorade sauvage et d'élevage au cours des procédures de la manipulation, de distribution et d'entreposage (Mackie, 1993; Alasalvar et al., 2002, 2005; Kuley et al., 2005; Grigorakis, 2007; Mnari et al., 2007; Özogul et al., 2007), il y a peu de travaux concernant la comparaison de l'effet de la congélation sur les protéines musculaires de la Dorade sauvage et d'aquaculture. L'objectif de ce travail était d'étudier l'évolution des profils myofibrillaires et sarcoplasmiques des filets de la Dorade royale durant 4 mois de congélation à -18°C et de chercher l'effet potentiel de la variation de l'origine de production de ce poisson (sauvage/élevage) sur ces profils.

MATERIEL ET METHODES

1 Matériel biologique et préparation des échantillons

Les dorades sauvages (191 ± 18 g et 262 ± 14 mm) ont été pêchées à la palangre sur les côtes du centre Est de la Tunisie (région de Hergla). Le même jour, les dorades d'élevage (208 ± 22 g et 241 ± 11 mm) ont été obtenues de la ferme aquacole « Aquaculture Tunisienne », située à Hergla en Tunisie. Les dorades d'élevage ont été élevées sous des conditions typiques d'aquaculture dans des bassins en béton, en utilisant le même aliment commercial (Mistral-21, EWOS, Duenas, Palencia, Espagne) fourni à volonté. L'aliment servi sous la forme de granules semi humides, était composé de 45% de protéines, 21% de lipides, 14,5% d'hydrates de carbone, 11% de cendres et 1,5% de fibres brutes. Sur sites, les échantillons de poissons sauvages et d'élevage ont été abattus par immersion dans l'eau glacée (hypothermie), par la suite emballés séparément dans des boîtes en polystyrène avec de la glace pilée et livrés au laboratoire (centre de l'INSTM à La Goulette) dans les 3 heures qui suivent l'abattage. A l'arrivée et dans une salle thermostatée (à 15°C), les poissons ont été aussitôt pesés, éviscérés, étêtés, lavés à l'eau de robinet et filetés. Des portions de chair ont été par la suite prélevées de six filets différents de chaque lot, immergées dans l'azote liquide et stockées immédiatement à -80°C pour servir de T0 pour les analyses ultérieures. Les filets des dorades ont été divisés en deux lots: lot de dorades sauvages (S) et lot d'aquaculture (A). Tous les filets des deux lots ont été emballés séparément dans des sachets en polyéthylène (non scellés) et ensuite stockés dans le congélateur à -18°C durant 120 jours (4 mois). Des prélèvements de chair de chaque lot de poisson ont été effectués les jours 0, 30, 60, 90 et 120 pour la réalisation des analyses protéiques.

2 Analyses des protéines

Fractionnement des protéines musculaires

La séparation des protéines musculaires en fraction cytoplasmique et myofibrillaire a été conduite selon la méthode de Hashimoto et al. (1979). Afin d'éviter toute activation de protéases, les échantillons de chair ont été gardés sur la glace durant toute la procédure d'extraction. Le fractionnement a été effectué suivant les forces ioniques des solutions de solubilisation préparées comme suit: une solution (A) de tampon phosphate de faible force ionique $I = 0,05$ et de $pH = 7,5$, contenant $15,6 \text{ mM}$ de Na_2HPO_4 , $3,5 \text{ mM}$ de KH_2PO_4 , une solution (B) de tampon phosphate de forte force ionique $I = 0,5$ et de $pH = 7,5$, contenant $15,6 \text{ mM}$ de Na_2HPO_4 , $3,5 \text{ mM}$ de KH_2PO_4 et $0,45 \text{ mM}$ de KCl . Pour chaque prélèvement de chair, une portion de 1 g de muscle blanc a été homogénéisée sous glace, à laquelle ont été ajoutés 10 ml du tampon (A) réfrigéré. Après agitation, la solution a été centrifugée à $5000 \times g$ durant 15 min à 4°C et le surnageant a été récupéré. Un autre volume de 10 ml de tampon (A) a été rajouté au culot et la même procédure a été répétée. Les deux surnageants ont été mélangés pour obtenir la fraction sarcoplasmique (SPP). Le culot a été repris dans 10 ml du tampon (B) réfrigéré et la même procédure a été refaite. Le surnageant obtenu pour cette fois a été aussi récupéré pour former la fraction myofibrillaire (MFP). Les deux fractions SPP et MFP ont été conservées à -80°C jusqu'à l'analyse.

Dosage des protéines solubles

Le dosage protéique dans chaque fraction a été réalisé selon une micro-méthode dérivée de celle de Bradford (1976) en utilisant une microplaque de 96 puits. Le réactif de Bradford a été préparé à partir de 50 mg de bleu de Coomassie G250, 25 ml d'éthanol à 95% et 50 ml de H_3PO_4 à 85% , complété avec l'eau bi-distillée jusqu'au volume de 500 ml . Cette solution a été filtrée avant chaque utilisation. Dans chaque puits de la microplaque, $250 \mu\text{l}$ de réactif de Bradford ont été mis en réaction avec $10 \mu\text{l}$ d'extrait protéique dilué au $50^{\text{ème}}$ par le tampon approprié. De même, une gamme étalon préparée à partir d'une solution standard de BSA, avec des concentrations comprises entre $5 \mu\text{g/ml}$ et $200 \mu\text{g/ml}$, a été manipulée de la même façon. Après agitation et incubation de la microplaque durant 10 min à température ambiante, les mesures d'absorbance ont été faites à 595 nm sur un spectrophotomètre à microplaque (μQuant , BioTek, Vermont, USA).

Electrophorèse SDS-PAGE

L'électrophorèse des différentes fractions protéiques musculaires a été accomplie en condition dénaturante selon la méthode décrite par Laemmli (1970), en utilisant un système d'électrophorèse de type Mini Protean II (Biorad, Hercules, CA). La séparation des protéines a été basée uniquement sur leurs poids moléculaires. La séparation électrophorétique a été

réalisée sur des gels verticaux de polyacrylamide (8 cm de largeur, 6 cm de hauteur et $0,75 \text{ mm}$ d'épaisseur). Le gel a été composé de deux parties; une première partie constituant le gel d'alignement ou de concentration (à 5% en acrylamide) et une seconde beaucoup plus importante par la taille (à 15% en acrylamide). Le gel d'alignement (à 5%) a été composé de 1 ml d'une solution C (50 ml de Tris-HCl (1 M , $pH 6,8$), 4 ml SDS 10% (Sodium dodecyl sulfate), 46 ml d'eau UP), de $0,67 \text{ ml}$ d'une solution A (30% acrylamide, bis-acrylamide $0,8\%$), de $2,3 \text{ ml}$ d'eau UP, de $30 \mu\text{l}$ de persulfate d'ammonium (10%) et de $5 \mu\text{l}$ de TEMED (Tetramethylethylenediamine). Le gel de séparation (à 15%) a été composé de $2,5 \text{ ml}$ d'une solution B (75 ml de Tris-HCl (2 M , $pH 8,8$), 4 ml SDS 10% , 21 ml d'eau UP), de 5 ml de solution A, de $2,5 \text{ ml}$ d'eau UP, de $50 \mu\text{l}$ de persulfate d'ammonium 10% et de $5 \mu\text{l}$ de TEMED.

Les échantillons protéiques (4 volumes) ont été dénaturés par ajout d'un tampon (1 volume) contenant $0,6 \text{ ml}$ de Tris-HCl à 1 M ($pH 6,8$), 5 ml de glycérol (50%), 2 ml de SDS 10% , 1 ml de bromophenol (1%) et $0,5 \text{ ml}$ de β -mercaptoéthanol, $0,9 \text{ ml}$ d'eau ultra pure (UP) et puis par un chauffage à 100°C pendant 5 minutes. Le but de cette dénaturation étant de dissocier les sous-unités protéiques par chauffage avec la présence obligatoire d'un réducteur de ponts di-sulfures S-S (le β -mercaptoéthanol) et de charger toutes les protéines négativement par chélation avec le SDS. Les protéines ainsi chargées vont migrer uniquement en fonction de leur poids moléculaire. Des volumes appropriés de chaque fraction protéique ont été déposés dans les puits du gel afin de charger respectivement 30 et $35 \mu\text{g}$ de protéines par puits des extraits sarcoplasmiques (SPP) et myofibrillaires (MFP). Des marqueurs de taille (PM) composés par des protéines recombinantes ont été chargés en parallèle ($5 \mu\text{l}$) ayant pour poids moléculaires: 225 , 150 , 100 , 75 , 50 , 35 , 25 et 10 kDa (Promega, Madison, USA). Chaque migration a été réalisée dans un tampon de migration (3 g de Tris, $14,4 \text{ g}$ de glycine et 1 g de SDS complété avec l'eau bi-distillée jusqu'au volume de 1 litre et $pH \approx 8,3$), à une intensité de 30 mA par gel (voltage constant à 200 V) pendant 30 à 40 minutes jusqu'à ce que le front de migration atteignait le bas du gel de séparation. Les bandes protéiques ont été révélées en utilisant la méthode de coloration au bleu de Coomassie. Au début, une étape de fixation/coloration a été entamée dans une solution contenant 450 ml de méthanol, 100 ml d'acide acétique, 450 ml d'eau bi-distillée et 1 g de bleu de Coomassie (R-250). Cette étape a été suivie par une décoloration pouvant durer une nuit, sous faible agitation, dans une solution composée de 100 ml de méthanol, 100 ml d'acide acétique et 800 ml d'eau bi-distillée. Les bains de décoloration ont été renouvelés régulièrement. Enfin, les gels ont été photographiés

avec un dispositif de photo-documentation Digi-Doc-IT (UVP, Upland, Ca) et analysés par le logiciel Gel-Pro Analyzer (Media Cybernetics, Bethesda, MD).

3 Analyses statistiques

A chaque fois, la séparation des protéines (SPP ou MFP) de chaque lot de Dorade a été menée en parallèle sur deux gels séparés montés sur l'appareil d'électrophorèse. Dans chaque cas, la même expérimentation a été répétée 6 fois. La comparaison des densités optiques des bandes protéiques considérées a été réalisée par analyses de variance à un facteur (ANOVA), en utilisant le test de Tukey et le logiciel SPSS, Version 11.01 (SPSS, Chicago, IL). Le seuil de confiance étant défini à 95% ($p = 0,05$).

RESULTATS ET DISCUSSION

1 Comparaison des profils protéiques des deux populations de Dorade à l'état frais

Les profils électrophorétiques de la fraction sarcoplasmique et myofibrillaire des protéines musculaires de la daurade sauvage et celle d'élevage sont représentés respectivement dans les Fig. 1 et 2. Les profils ont été réalisés sur plusieurs échantillons dont trois de chaque population de Dorade sont montrés sur la même figure.

Les profils électrophorétiques de la fraction sarcoplasmique (SSP) des filets de la Dorade sauvage et d'élevage (Fig. 1) ont permis d'identifier 11 bandes principales avec des poids moléculaires relatifs de 100, 62, 50, 41, 36, 33, 26, 24, 22, 10 et 9 kDa. Pour

les profils de la fraction myofibrillaire (MFP), plusieurs bandes ont été obtenues des extraits protéiques chez la Dorade sauvage et d'élevage (Fig. 2). Néanmoins, les bandes les plus apparentes de point de vue densité optique ont été caractérisées par des poids moléculaires relatifs de 200, 108, 42, 32, 18 et 16 kDa. Conformément aux travaux de Delbarre-Ladrat et al. (2006) et plusieurs autres références, ces bandes ont été identifiées respectivement: chaîne lourde de myosine (MHC), α -actinine (α -ACN), actine (AC), tropomyosine (TMP) et deux chaînes légères de myosine (MLC) (Fig. 2).

L'observation de ces profils protéiques n'a pas montré de différences majeures et le schéma de l'expression protéique musculaire des deux types de dorades a mis en exergue des ressemblances évidentes. Toutefois, des petites différences dans l'intensité des bandes peuvent être attribuées à des polymorphismes individuels ou à la différence de la quantité relative de protéines chargées sur le gel d'électrophorèse comme il a été noté par Martinez et al. (2007). Les résultats obtenus, lors de la présente étude, ont été conformes aux analyses électrophorétiques des protéines musculaires des poissons sauvages et d'élevage de la même espèce (*Sparus aurata*) réalisées par Carpene' et al. (1998), et plus récemment par les analyses protéomiques menées par Addis et al. (2010), comparant un grand nombre d'échantillons ($n = 540$) de ces mêmes poissons dans la méditerranée. Par contre, d'autres

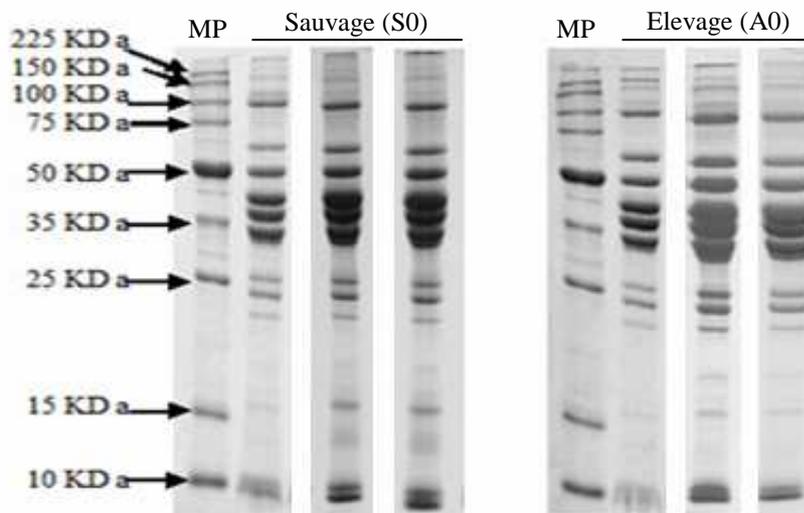


Fig. 1: Comparaison des profils électrophorétiques des protéines sarcoplasmiques des filets de la Dorade sauvage (S0) et d'élevage (A0) à l'état frais (MP: marqueurs de poids moléculaire des protéines)

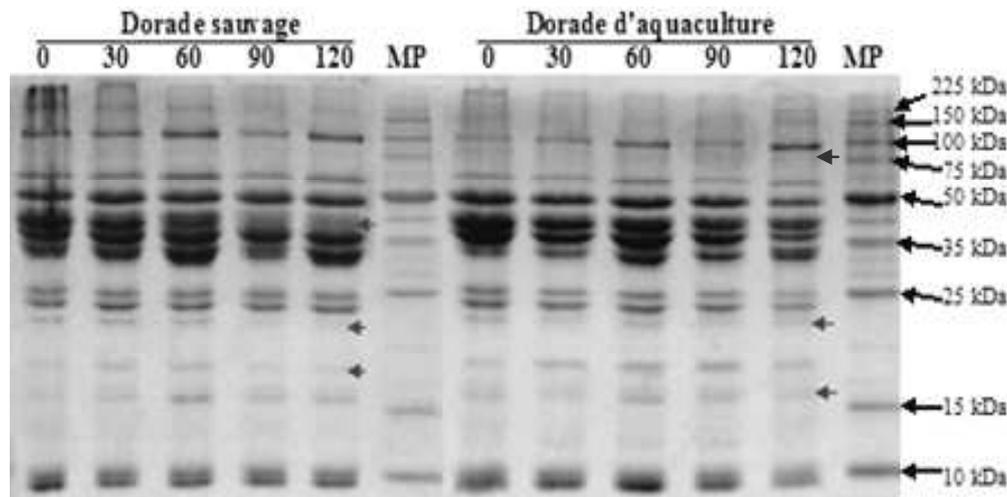


Fig. 2: Comparaison des profils électrophorétiques des protéines myofibrillaires des filets de la Dorade sauvage (S0) et d'élevage (A0) à l'état frais (MP: marqueurs de poids moléculaire des protéines)

travaux sur d'autres espèces de poissons ont montré des différences significatives dans les profils protéiques des spécimens sauvages et d'élevage de la même espèce, tel est le cas du bar commun (*Dicentrarchus labrax*) (Monti et al., 2005), où ces dissemblances ont été suggérées être liées à la différence de la taille entre les échantillons des poissons considérés; et le cas de la morue (*Godus morhua*) (Martinez et al., 2007), où les différences (bandes additionnelles entre 35-45 kDa et entre 50-100 kDa chez le poisson d'élevage) ont été rapportées être causées en partie par les conditions de l'élevage de cette espèce. Il est à noter aussi que plusieurs ouvrages ont démontré que l'expression des protéines et leur synthèse chez les poissons de même espèce ne sont affectés que par la température ambiante de leur milieu aquatique (Martinez & Pettersen, 1992; Martinez et al., 1995; Hall et al., 2003).

2 Variation des profils électrophorétiques des protéines musculaires au cours de la congélation

Les résultats de l'électrophorèse en conditions dénaturantes (SDS-PAGE) de la fraction sarcoplasmique des protéines musculaires de la daurade sauvage et celle d'élevage stockées à -18°C sont représentés dans la Fig. 3. Pour les dorades sauvages, l'analyse densitométrique de leur profil de protéines sarcoplasmiques (SPP) a montré une nette diminution ($p < 0,05$) de la densité de 3 bandes de poids moléculaire 41, 23 et 18 kDa (indiquées par des flèches, Fig. 3) et ce à partir du 90^{ème} jour du stockage congelé. Pour le cas de la Dorade d'élevage, la même analyse a exposé une nette diminution ($p < 0,05$) de la densité de 2 bandes de poids moléculaire 75 et 23 kDa après 90 jours de congélation, et de la bande correspondant à 16 kDa après 120 jours du stockage congelé (bandes indiquées par des flèches, Fig. 3).

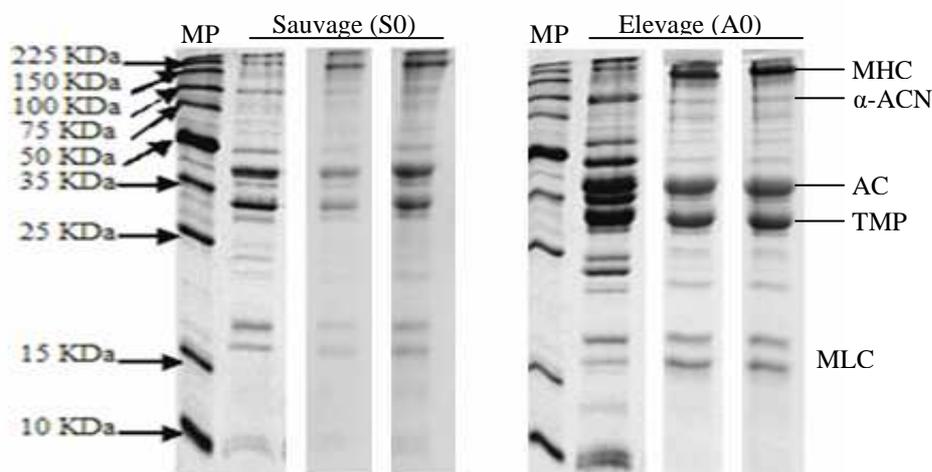


Fig. 3: Profil électrophorétique des protéines sarcoplasmiques des filets de la Dorade sauvage et d'élevage stockés à -18°C durant 120 jours (MP: marqueurs de poids moléculaire des protéines)

Les résultats de l'électrophorèse en conditions dénaturantes (SDS-PAGE) de la fraction myofibrillaires des protéines musculaires des filets des deux populations de la Dorade stockées à -18°C sont représentés dans la Fig. 4.

L'analyse densitométrique du profil de protéines myofibrillaires obtenu chez la Dorade sauvage a révélé une nette diminution ($p < 0,05$) de la densité de 3 bandes de poids moléculaire 75, 60 et 37 kDa et l'amplification ($p < 0,05$) de la densité de la bande de 18 kDa (indiquées par des flèches, Fig. 4). Ces variations ont pris place à partir du 60^{ème} jour du stockage congelé. Le profil protéique de la Dorade d'élevage a été caractérisé par une nette intensification ($p < 0,05$) de la densité de 4 bandes de poids moléculaire 70, 23, 16 et 10 kDa (indiquées par des flèches, Fig. 4) et ce à partir du 30^{ème} jour du stockage congelé. En général, l'évolution des profils électrophorétiques des fractions MFP et SPP des protéines musculaires n'a pas illustré de variations majeures chez les deux populations de dorades même après 120 jours de congélation. Cependant, les faibles modifications significatives observées et qui ont été plus précoces chez la Dorade d'élevage (particulièrement pour les protéines myofibrillaires) sont dues essentiellement aux phénomènes de dénaturation, d'agrégation et de protéolyse souvent inévitables lors du stockage congelé des poissons (Makri, 2009). Ces phénomènes sont initiés notamment suite à l'interaction des protéines avec d'autres molécules produites dans le muscle durant la congélation dues aux altérations autolytiques, tels que les produits issus de l'oxydation secondaire des lipides et/ou les produits issus de la réduction de

l'oxyde de la triméthylamine (TMAO) comme la diméthylamine et le formaldéhyde; et d'autre part, suite aux altérations structurales des cellules musculaires et la libération des enzymes endogènes causées par la formation des cristaux de glace dans le tissu musculaire lors de la congélation (Macki, 1993; Huidobro & Tejada, 1995; Alvarez et al., 1999; Tejada et al., 2003; Ozyurt et al., 2007; Makri, 2009).

Dans la présente étude, les variations plus précoces, enregistrées particulièrement dans le profil myofibrillaire des poissons d'élevage durant la congélation, sont dues principalement à l'interaction de ces protéines avec les produits d'oxydation lipidique de ces poissons. En fait, plusieurs études (Dragoev et al., 1998; Medina et al., 2009; Attouchi & Sadok, 2010 et 2011) ont montré que durant le stockage réfrigéré ou congelé, l'oxydation lipidique était relativement plus accélérée chez les poissons d'élevage que chez leurs congénères sauvages. Ce phénomène a été attribué à la différence des propriétés lipidiques entre les deux types de poissons, du fait que les muscles des poissons d'aquaculture renferment des quantités de lipides plus élevées et plus riches en acides gras poly-insaturés, de la série n-3, qui sont plus susceptibles à l'oxydation (Simeonidou et al., 1997 et 1998; Grigorakis, 2007; Mnari et al., 2007, Medina et al., 2009). En outre, cette oxydation plus importante chez ces derniers types de poissons a été rapportée être liée aussi aux conditions d'élevage intensif telles que la présence de stress oxydatif chez ces organismes et/ou la qualité des lipides de l'aliment artificiel ingéré (Murata et al., 1996).

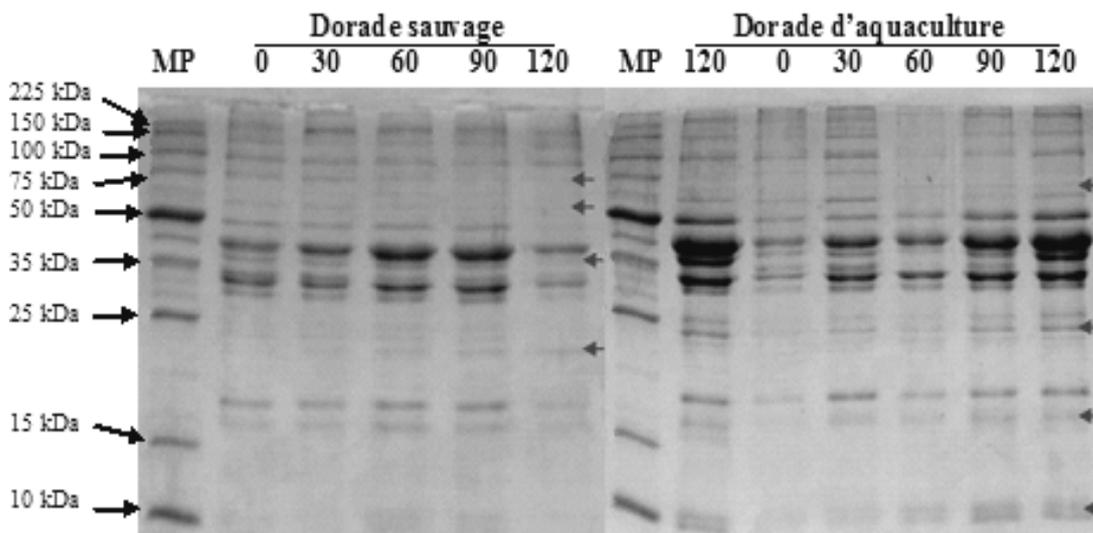


Fig. 4: Profil électrophorétique des protéines myofibrillaires des filets de la Dorade sauvage et d'élevage stockés à -18°C durant 120 jours (MP: marqueurs de poids moléculaire des protéines)

Plusieurs ouvrages ont pu mettre en exergue des modifications plus ou moins faibles par l'électrophorèse des protéines musculaires de plusieurs espèces de poissons lors du stockage à l'état congelé. Chez la Dorade d'élevage, des spécimens entiers, éviscérées et emballées sous vide n'ont pas montré de modifications substantielles dans les profils protéiques des fractions MFP et SPP après le stockage d'une année à -20°C, et les faibles changements perceptibles n'ont touché que la formation d'agrégats protéiques solubles et insolubles mais sans affecter les sites actifs de myosine (Tejada et al., 2003). Chez le chinchard entreposé à -20°C sous forme de filets, l'analyse électrophorétique n'a pas montré de modifications nettes des protéines SPP et MFP, même après une année de congélation (Aubourg et al., 2004).

Chez la morue, les protéines myofibrillaires comme l'actine (45 kDa) et la tropomyosine (36 kDa) ainsi que les protéines sarcoplasmiques ont subi un faible changement après 4 mois de congélation (LeBlanc & LeBlanc, 1989). Pour la sardine, une réduction de l'intensité de la bande de la chaîne lourde de myosine (MHC) en plus d'un faible changement des bandes des protéines sarcoplasmiques ont été enregistrés après l'entreposage à -18°C durant 8 mois (Montero et al., 1999). Chez le merlu, après 4 mois de stockage congelé, une réduction de la bande de chaîne lourde de myosine MHC (205 kDa) a été observée, alors que les intensités des bandes de faible poids moléculaire sont restées sans modification claire, indiquant ainsi la polymérisation de MHC (Lian et al., 2000). La congélation à -11°C des filets du saumon de la mer (*Pseudoperca semifasciata*) a causé l'amplification des bandes de protéines myofibrillaires de faible poids moléculaire comme la chaîne légère de myosine (MLC), et le rétrécissement d'autres bandes après 6 mois d'entreposage. D'autre part, les protéines de haut poids moléculaire tels que la chaîne lourde de myosine (MHC) et d'autres peptides ont subi une diminution d'intensité à partir de 3^{ème} mois de stockage et une quasi-disparition après 6 mois de congélation. Ceci a été expliqué par une agrégation de protéines de haut poids moléculaire (Tironi et al., 2010). Chez les poissons riches en lipides comme le maquereau (*Scomber scombrus*) stocké à -20°C, des modifications importantes dans leurs profils électrophorétiques ont été enregistrées. En effet, une diminution de l'intensité de la bande de myosine (MHC) et d'une façon moins accentuée de la bande correspondant à l'actine a été observée après 9 mois de congélation, ceci a été suivi par la disparition complète de la MHC vers le 12^{ème} mois de stockage. Ces variations ont été rapportées être dues à la réticulation des protéines formant de gros polymères par interaction avec les produits d'oxydation lipidiques du fait qu'elles sont aussi partiellement inhibées par l'addition d'antioxydant à la chair du

poisson (Saeed & Howell, 2002). D'une façon générale, le profil et l'extractibilité des protéines musculaires chez les poissons, durant l'entreposage congelé, sont affectés par plusieurs facteurs tels que l'espèce, l'âge, la saison de capture, le contenu lipidique, le statut nutritionnel, la manipulation post-mortem, le stress post-capture, l'état de rigor-mortis ainsi que les stades de reproduction et de post-migration (Leinot & Cheftel, 1990; Haard, 1992; Huidobro & Tejada, 1995).

CONCLUSION

A l'état frais, l'origine de la production de la Dorade (sauvage/aquaculture) n'a pas révélé d'effet significatif sur les profils électrophorétiques des protéines myofibrillaires ou sarcoplasmiques de ce poisson. Durant le stockage congelé à -18°C durant 120 jours, les profils des protéines musculaires de la Dorade ont montré une stabilité relative et n'ont visualisé que de faibles changements dans les densités optiques de quelques bandes protéiques. Cependant, les filets des dorades sauvages ont été qualifiés plus stables durant une période de 60 jours, puisque les faibles variations, affectant principalement les protéines myofibrillaires, ont été détectées plus tardivement chez ce lot de poisson. La technique de congélation à -18°C s'est montrée adéquate pour la conservation des protéines musculaires de ces poissons pour des longues durées (4 mois), mais d'autres analyses relatives à d'autres paramètres qualitatifs, dont notamment l'oxydation lipidique, sont nécessaires pour mieux déterminer la période de congélation qui permet la préservation de la qualité nutritionnelle du poisson en fonction de son origine de production.

BIBLIOGRAPHIE

- Addis, M.F., Cappuccinelli, R., Tedde, V., Pagnozzi, D., Porcu, M.C., Bonaglini E., Roggio, T. & Uzzau, S. (2010). Proteomic analysis of muscle tissue from gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) farmed in offshore floating cages. *Aquaculture*, 309, 245-252.
- Alasalvar, C., Taylor, K. D. A., & Shahidi, F. (2002). Comparative quality assessment of cultured and wild sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 2039-45.
- Alasalvar, C., Taylor, K. D. A., & Shahidi, F. (2005). Comparison of volatiles of cultured and wild sea bream (*Sparus aurata*) during storage in ice by dynamic headspace analysis/gas chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 2616-22.
- Alvarez, C., Huidobro, A., Tejada, M., Vazquez, I., De Miguel, E., Gomez De Segura, I.A. (1999). Consequences of frozen storage for nutritional

- value of hake. *Food Sci. Technol. Int.*, 5, 493-499.
- Attouchi, M & Sadok, S. (2010). The effect of powdered thyme sprinkling on quality changes of wild and farmed gilthead sea bream fillets stored in ice. *Food Chem.*, 119, 1527-34.
- Attouchi, M. & Sadok, S. (2011). The effects of essential oils addition on the quality of wild and farmed sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. *Food Bioprocess Tech.*, DOI 10.1007/s11947-011-0522-x, in press.
- Aubourg, S.P, Lugasi, A., Hovari, J., Pineiro C., Lebovics V. & Jakoczi I. (2004). Damage inhibition during frozen storage of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) fillets by a previous plant extract treatment. *J. Food Sci.*, 69, 136-141.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.
- Carpene', E., Martin, B. & Dalla Libera, L. (1998). Biochemical differences in lateral muscle of wild and farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Fish Physiol. Biochem.*, 19, 229-238.
- Castrillon, A., Alvarez-Pontes, E., Garcia, M. & Navarro, P. (1996). Influence of frozen storage and defrosting on the chemical and nutritional quality of sardine (*Clupea pilchardus*). *J. Sci. Food Agric.*, 70, 29-34.
- Delbarre-Ladrat, C., Chéret, R., Taylor, R. & Verrez-Bagnis, V. (2006). Trends in post-mortem aging in fish: understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure. *Crit. Rev. Food Sci. Nut.*, 46, 409-421.
- DGPA, (2010). *Annuaire Statistiques de la Direction Générale de la Pêche et de l'Aquaculture*, Ministère de l'Agriculture, Tunisie, 114 pages.
- Dragoev, S.G., Kiosev, D.D., Danchev, S.A., Ioncheva, N.I. & Genov, N.S. (1998). Study on the oxidative processes in frozen fish. *Bulgarian J. Agric. Sci.*, 4, 55-65.
- Erikson, U., Beyer, A.R. & Sigholt, T. (1997). Muscle high-energy phosphates and stress affect K-values during ice storage of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Food Sci.*, 62, 43-47.
- FAO, Globefish, (2012). *FAO, Département des pêches et de l'aquaculture de la FAO*, FAO, Rome. <http://www.globefish.org/seabass-and-seabream-february-2011.html>. Accédé en Janvier 2012.
- Grigorakis, K. (2007). Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and factors affecting it: A review. *Aquaculture*, 272, 55-75.
- Haard, N.F. (1992). Biochemical reactions in fish muscle during frozen storage. In *Seafood Science and Technology*, (Ed. E. Bligh). Fishing New Books, Oxford, UK, 176-209.
- Hall, T. E., Cole, N. J., & Johnston, I. A. (2003). Temperature and the expression of seven muscle-specific protein genes during embryogenesis in the Atlantic cod *Gadus morhua* L., *J. Exp. Bio.*, 206, 3187-200.
- Hashimoto, K., Watanabe, S., Kono, M. & Shiro, K. (1979). Muscle protein composition of sardine and mackerel. *Bull. Jpn. Soc. Sci.*, 45, 1435-41.
- Huidobro, A. & Tejada, M. (1995). Alteration of the electrophoretic pattern of myofibrillar proteins in fish mince during frozen storage. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 200, 247-251.
- Kristoffersen, S., Tobiassen, T., Esaiassen, M., Olsson, G. B., Godvik, L. A., Seppola, M. A., et al. (2006). Effects of pre-rigor filleting on quality aspects of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture Research*, 37, 1556-64.
- Kuley, E., Özogul, F. & Özogul, Y. (2005). Effects of aluminium foil and cling film on biogenic amines and nucleotide degradation products in gutted sea bream stored at 2 ± 1 °C. *European Food Res. Technol.*, 221, 582-591.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
- LeBlanc, E.L. & LeBlanc, R.J. (1989). Separation of cod (*Gadus morhua*) fillet proteins by electrophoresis and HPLC after various frozen storage treatments. *J. Food Sci.*, 54, 827-834.
- Leinot, A., & Cheftel, J. C. (1990). Influence of fishing season and of chilled or frozen storage of sardine on the solubility and gelling properties of myofibrillar proteins. Chilling and freezing of new fish products. *International Institute of Refrigeration*, Paris, France, 29-44.
- Lian, P.Z., Lee, C.M. & Hufnagel, L. (2000). Physicochemical properties of frozen red hake (*Urophycis chuss*) mince as affected by cryoprotective ingredients. *J. Food Sci.*, 65, 1117-23.
- Mackie, I.M. (1993). The effects of freezing on flesh proteins. *Food Rev. Inter.*, 9, 575-610.
- Makri, M. (2009). Biochemical and textural properties of frozen stored (-22°C) gilthead seabream (*Sparus aurata*) fillets. *African Journal of Biotechnology*, 8, 1287-99.
- Martinez, I., & Pettersen, G. W. (1992). Temperature-induced precocious transitions of myosin heavy chain isoforms in the white muscle of the Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Basic & Applied Myology*, 2, 89-95.
- Martinez, I., Dreyer, B., Agersborg, A., Leroux, A., & Boeuf, G. (1995). Effects of T3 and rearing temperature on growth and skeletal myosin

- heavy chain isoform transition during early development in the salmonid (*Salvelinus alpinus* L.). *Comp. Biochem. Phys. (B)*, 112, 717-725.
- Martinez, I., Slizyte, R., Dauksas, E. (2007). High resolution two-dimensional electrophoresis as a tool to differentiate wild from farmed cod (*Gadus morhua*) and to assess the protein composition of klipfish. *Food Chem.*, 102, 504-510.
- Medina, I., González, M.J., Iglesias, J. & Hedges, N. D. (2009). Effect of hydroxycinnamic acids on lipid oxidation and protein changes as well as water holding capacity in frozen minced horse mackerel white muscle. *Food Chem.*, 114, 881-888.
- Mnari, A., Bouhlel, I., Chraief, I., Hammami, M., Romdhane, M. S., El Cafsi, M., & Chaouch, A. (2007). Fatty acids in muscles and liver of Tunisian wild and farmed gilthead sea bream, *Sparus aurata*. *Food Chem.*, 100, 1393-97.
- Montero, P., Pardo, M.V., Gomez-Guillen, M.C. & Borderias, J. (1999). Chemical and functional properties of sardine (*Sardina pilchardus* W.) dark and light muscle proteins during frozen storage. Effect of washing on mince quality. *Food Sci. Tech. Int.*, 5, 139-147.
- Monti, G., De Napoli, L., Mainolfi, P., Barone, R., Guida, M., Marino, G., Amoresano, A., (2005). Monitoring food quality by microfluidic electrophoresis, gas chromatography, and mass spectrometry techniques: effects of aquaculture on the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Anal. Chem.*, 77, 2587-94.
- Murata, H., Sakai, T., Yamauchi, K., Ito, T., Tsuda, T., Yoshida, T. & Fukudom, M. (1996). In vivo lipid peroxidation levels and antioxidant activities of cultured and wild yellowtail. *Fisheries Sci.*, 62, 64-68.
- Nielsen, J. & Jessen, F. (2007). Quality of frozen fish. In: *Handbook of meat, poultry and seafood quality*. Nollet, L. M. L. (Ed.), Blackwell Publishing, Iowa. 577-586.
- Özogul, F., Kuley, E. & Özogul, Y. (2007). Sensory, chemical and microbiological quality parameters in sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice or wrapped in cling film or in aluminium foil at $2 \pm 1^\circ\text{C}$. *Inter. J. Food Sci. Tech.*, 42, 903-909.
- Ozyurt, G., Polat, A., Bahar, H. & Tokur B. (2007). Chemical and sensory changes in frozen (-18°C) wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) captured at different fishing seasons. *Inter. J. Food Sci. Tech.*, 42, 887-893.
- Persson, P.O. & Londahl, G. (1993). Freezing technology. In: *Frozen Food Technology* (Ed CP Mallett), Chapman & Hall, Glasgow, UK, 339 p.
- Pigott, G. & Tucker, B. (1987). Science opens new horizons for marine lipids in human nutrition. *Food Rev. Int.*, 3, 105-138.
- Saeed, S. & Howell, N. (2002). Effect of lipid oxidation and frozen storage on muscle proteins of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). *J. Sci. Food Agric.*, 82, 579-586.
- Sigholt, T., Erikson, U., Rustad, T., Johansen, S., Nordtvedt, T.S. & Seland, A. (1997). Handling stress and storage temperature affect meat quality of farmed-raised Atlantic salmon (*Salmo Salar*). *J. Food Sci.*, 62, 898-905.
- Simeonidou, S., Govaris, A. & Vareltzis, K. (1997). Effect of frozen storage on the quality of whole fish and fillets of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) and Mediterranean hake (*Merluccius mediterraneus*). *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A*, 204, 405-410.
- Simeonidou, S., Govaris, A. & Vareltzis, K. (1998). Quality assessment of seven Mediterranean fish during storage on ice. *Food Research Inter.*, 30, 479-484.
- Tejada, M., Huidobro, A. & Mohamed, G.F. (2003). Comparison of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and hake (*Merluccius merluccius*) muscle proteins during iced and frozen storage. *J. Sci. Food Agric.*, 83, 113-122.
- Tironi, V.A., Tomas, M. C., Anon, M. C. (2010). Quality loss during the frozen storage of sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*). Effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract. *LWT - Food Sci. Tech.*, 43, 263-272.
- Undeland, I. & Lingnert, H. (1999). Lipid oxidation in fillets of herring (*Clupea harengus*) during frozen storage. Influence of prefreezing storage. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 2075-81.