



**DINAI**

**Application des procédés et formulation  
mis au point par l'ADIV afin de supprimer  
les NO3/NO2 des saucissons secs**

**Acronyme : Sauci-sans-Nitr**

**Rapport technique**

**Juin 2024**



**PRÉFET  
DE LA RÉGION  
AUVERGNE-  
RHÔNE-ALPES**

*Liberté  
Égalité  
Fraternité*

**Laurent PICGIRARD**



ZAC Parc Industriel des Gravanches

10 rue Jacqueline AURIOL

63039 CLERMONT-FERRAND cedex 2

Tél : 04 73 98 53 80 – Fax : 04 73 98 53 85

Email : laurent.picgirard@adiv.fr

## Table des matières

|                                                                                                                                  |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. CONTEXTE ET OBJECTIF DU PROJET .....</b>                                                                                   | <b>3</b>  |
| <b>2. ETUDE DE COMBINAISONS D'ANTIOXYDANTS EN VUE D'OBTENIR UN PRODUIT<br/>ACCEPTABLE D'UN POINT DE VUE ORGANOLEPTIQUE .....</b> | <b>5</b>  |
| <b>2.1. Etat de l'art.....</b>                                                                                                   | <b>5</b>  |
| <b>2.2. Première série d'essais .....</b>                                                                                        | <b>6</b>  |
| 22.1 Matériels et méthodes .....                                                                                                 | 6         |
| 22.2 Résultats .....                                                                                                             | 7         |
| <b>2.3. Seconde série de tests .....</b>                                                                                         | <b>11</b> |
| 23.1 Matériels et méthodes .....                                                                                                 | 11        |
| 23.2 Résultats .....                                                                                                             | 12        |
| <b>2.4. Troisième série .....</b>                                                                                                | <b>21</b> |
| 24.1 Matériels et méthodes .....                                                                                                 | 21        |
| 24.2 Résultats .....                                                                                                             | 22        |
| <b>3. MISE EN ŒUVRE DES ESSAIS DANS DES ENTREPRISES DE FABRICANTES DE<br/>SAUCISSON SECS .....</b>                               | <b>30</b> |
| <b>3.1. Tests effectués dans l'entreprise A .....</b>                                                                            | <b>30</b> |
| 31.1 Matériels et méthodes .....                                                                                                 | 30        |
| 31.2 Résultats .....                                                                                                             | 31        |
| 31.3 Conclusion des essais .....                                                                                                 | 36        |
| <b>3.2. Tests effectués dans l'entreprise B.....</b>                                                                             | <b>38</b> |
| 32.1 Matériels et méthodes .....                                                                                                 | 38        |
| 32.2 Résultats .....                                                                                                             | 39        |
| 32.3 Conclusion des essais .....                                                                                                 | 44        |
| <b>4. CONCLUSION GENERALE.....</b>                                                                                               | <b>46</b> |
| <b>5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>                                                                                      | <b>47</b> |

## 1. Contexte et objectif du projet

Les nitrates (NO<sub>3</sub>) et nitrites (NO<sub>2</sub>) sont utilisés en salaison afin de réduire le risque sanitaire vis-à-vis de certains pathogènes mais également afin de fixer la couleur rouge caractéristique des salaisons, limiter leur oxydation et participer à la richesse aromatique du produit par leur remarquable pouvoir antioxydant.

Or, le Centre international de recherche sur le cancer a classé en 2015 les viandes transformées, dont font partie les saucissons secs, comme des aliments ayant un effet cancérigène certain pour l'homme. L'ajout de salpêtre (KNO<sub>3</sub>) ou de nitrite de sodium (NaNO<sub>2</sub>) sous forme de sel nitrité dans les viandes transformées est jugé comme responsable de ce rôle car ils forment pendant les procédés de transformation des produits et surtout lors de leur digestion des composés nitrosés dangereux pour la santé tels que des nitrosamines. Or, la consommation et la production des viandes de toute sorte ont augmenté dans le monde entier par le moteur de la globalisation [1].

Malgré l'emploi de ces conservateurs, les professionnels de la salaison sèche sont confrontés à la gestion et la maîtrise des bactéries pathogènes et notamment la présence résiduelle de salmonelles ou de *Listeria* en fin de séchage. En l'absence de critères réglementaires, la maîtrise de la qualité microbiologique des matières premières reste un levier délicat pour eux, pour s'affranchir des dangers microbiologiques qu'il s'agisse de *Salmonella* ou de *Listeria monocytogenes* compte tenu de la diversité des gammes des produits fabriqués et des performances variables de leurs fournisseurs comme des logistiques de livraison que ces derniers mettent en œuvre. Dans ce cadre, le salpêtre (KNO<sub>3</sub>) et surtout le nitrite de sodium (NaNO<sub>2</sub>) jouent un rôle capital pour limiter la prévalence de ces bactéries pathogènes dans les produits finis de type saucissons secs et globalement assurer leur sécurité sanitaire. Cet apport est d'autant plus important que le saucisson sec subit pendant son procédé d'élaboration, une étape d'étuvage qui consiste à chauffer le produit à une température de 24°C. Or, cette étape est reconnue comme promotrice de la croissance des bactéries pathogènes.

Depuis 2012, l'ADIV travaille à la réduction/suppression des additifs nitrés dans le saucisson sec. Sur le plan sanitaire, les travaux menés pour le compte d'APRIVIS, l'antenne R&D de la FICT (Fédération des industriels charcutiers et traiteur), ont permis via une première étude conduite en 2014 de réduire les doses maximales autorisées de salpêtre et de nitrite de sodium de 20%, tout en maintenant une sécurité sanitaire du produit satisfaisante vis-à-vis de *Salmonella spp* et *Listeria Monocytogenes*. Afin de poursuivre la dynamique de R&D pour supprimer le risque sanitaire dans des produits sans NO<sub>3</sub>/NO<sub>2</sub>, l'ADIV a conduit en 2021 et 2022, un projet pour le compte d'INAPORC, ayant pour objectif d'utiliser le levier de la température d'étuvage pour réduire le danger *Salmonelle* dans des saucisses sèches fabriquées sans conservateurs. Les résultats de ce projet ont été probants, mais ont amené à plusieurs interrogations en particulier celles de l'applicabilité de ces barèmes d'étuvages en entreprise et du comportement de la flore d'altération.

Outre leur rôle sanitaire, les conservateurs permettent aussi de préserver la qualité organoleptique des saucissons secs, la salpêtre et le nitrite ayant un pouvoir antioxydant très puissant. Ainsi, l'absence de conservateurs se traduit souvent par des produits oxydés dont la couleur est grise, la saveur souvent qualifiée de « rance » ou anormale avec des notes de type « animales ». Or, ces défauts sont rédhibitoires pour le consommateur. Ainsi, en 2017 et 2018, l'ADIV a investi dans des travaux de recherche financés par BPI, visant à stabiliser la couleur et l'oxydation de saucissons sans nitrates/nitrites par l'apport d'antioxydants végétaux. Plus de 16 antioxydants avaient été testés. Ces travaux ont permis d'identifier des solutions intéressantes parmi lesquelles un extrait de vin rouge. Malgré tout, celui-ci ne s'est pas avéré suffisamment performant pour préserver la couleur des saucissons secs de manière aussi stable que celle de témoins élaborés avec salpêtre ni pour conserver un goût jugé comme suffisamment acceptable. En effet, dans de nombreuses matrices (viande, jambon cuit), ce sont souvent des combinaisons d'antioxydants qui semblent être efficaces pour préserver la couleur et le goût des charcuteries. Or, les sources d'antioxydants existantes sont nombreuses comme les possibilités d'associations.

Compte tenu de ce contexte, il est capital pour l'ADIV, Institut Technique Agro-Industriel (ITAI) spécialisé à l'aval des filières viandes, de développer des connaissances et des stratégies technologiques permettant de réduire voire supprimer l'emploi des conservateurs nitrés (salpêtre et/ou sel nitrité) dans les saucissons secs et plus globalement dans les charcuteries et ainsi réduire l'exposition des populations à ces additifs tout en préservant leur sécurité sanitaire et leur qualité organoleptique.

L'action portée par l'ADIV avait donc pour objectif principal d'identifier et de tester des solutions de formulation et de procédé pour développer un saucisson sec sans conservateurs aux caractéristiques sanitaires et organoleptiques acceptables. Pour parvenir à cet objectif, deux verrous technologiques majeurs devaient être levés :

- identifier et tester de nouveaux antioxydants ou combinaisons d'antioxydants permettant d'obtenir un saucisson sans conservateurs aux caractéristiques organoleptiques acceptables,
- évaluer en conditions réelles l'impact de l'abaissement des températures d'étuvage.

Le projet s'est donc décomposé en deux sous-actions :

- la sous-action 1 dédiée à l'étude de nouveaux antioxydants ou combinaisons d'antioxydants en vue d'obtenir un produit acceptable d'un point de vue organoleptique. 3 séries d'essais et un total de 40 tests ont été mis en œuvre,
- la sous-action 2 dédiée à la mise en œuvre des essais dans des entreprises fabricantes de saucissons secs.

Le présent document décrit les résultats acquis au cours de ce projet.

## 2. Etude de combinaisons d'antioxydants en vue d'obtenir un produit acceptable d'un point de vue organoleptique

### 2.1. Etat de l'art

La bibliographie établie en 2017 et 2018 dans le cadre du projet BPI a été reprise et complétée afin d'identifier des antioxydants alternatifs. Ce travail constitue le point de départ pour la conception des protocoles visant à tester plusieurs nouveaux principes antioxydants seuls ou en combinaison.

Les principales molécules à effet antioxydant présentes dans les végétaux se classent en 6 grandes familles :

- l'acide ascorbique,
- l'acide caféique de la famille des phénylpropanoïdes (polyphénol),
- la quercétine de la famille des flavonols (polyphénol) [6],
- les catéchines et épicatechines de la famille des flavan3-ols (polyphénol) [7],
- les tannins (polyphénol),
- les anthocyanes, qui ont la particularité d'avoir une action antioxydante et colorante [8].

Au travers des différentes sources bibliographiques, des ingrédients riches en molécules antioxydantes avec pour certains d'entre eux, des propriétés colorantes naturelles ont été sélectionnés. Les ingrédients mis en œuvre sur des matrices carnées ont été privilégiés même s'ils n'avaient pas été spécifiquement testés sur des saucissons secs. Ont été choisis :

- le vin rouge, riche en anthocyanes et en tannins [8][9] ;
- le poivre de Tasmanie, très riche en cyanidine (anthocyane) [11] ;
- l'oignon rouge, réduit en poudre ou sous forme de jus concentré, riche en anthocyane et quercétine [12][13][14] ;
- Le cacao, riche en catéchine et épicatechine [15][16] ;
- le romarin, riche en acide caféique et l'acérولا, riche en acide ascorbique [17][18] ;
- le thé vert, riche en épicatechines[10][17][7].

En complément, deux catalyseurs de la formation de Zinc protoporphyrine (ZnPP), pigment naturel rouge stable qui se forme dans les jambons secs à longue durée de fabrication ont été identifiés :

- Le glutathion, antioxydant très puissant dont certains extraits de levure sont riches,
- la ferrochélatase (FeCH), qui peut être produite par certaines espèces bactériennes [19] comme les lactococcus cremoris [20].

## 2.2. Première série d'essais

### 22.1 Matériels et méthodes

Compte tenu de la bibliographie effectuée, 10 solutions antioxydantes identifiées dans la bibliographie ont été testées seules ou en combinaison, pour évaluer leur impact sur la couleur et la qualité organoleptique des saucisson secs.

8 formulations différentes sans conservateurs (sans salpêtre, sans sel nitrité) ont ainsi été élaborées et comparées à un témoin négatif lui aussi sans conservateurs mais sans antioxydants ajoutés **soit un total de 9 tests** (tableau 1). Tous les essais ont été embossés en format saucisse sous menu de porc de 40 mm de diamètre. Ils ont été étuvés soit à 24°C soit à +16°C.

| Essai  | Ingrédient                                                                                                          | Taux        |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| 1      | Extrait de vin rouge concentré                                                                                      | 1%          |
|        | Poivre gris moulu (surdosé)                                                                                         | 0,3%        |
| 2      | Poivre de Tasmanie                                                                                                  | 0,15%       |
|        | Sel de Guérande (à la place du sel nature)                                                                          | 2,6%        |
| 3      | Oignon rouge (OR) poudre                                                                                            | 0,3%        |
| 4      | Oignon rouge (OR) jus concentré                                                                                     | 1,16%       |
| 5      | Extrait de levure commercial SF                                                                                     | 2%          |
| 6      | Mix AOX de 7 solutions :<br>Oignon, cacao, romarin, vin, poivre de Tasmanie, extrait de thé vert, extrait de levure | 2,75%       |
| 7      | <i>Lactococcus cremoris</i>                                                                                         | 6 log UFC/g |
| 8      | Poudre de cacao commerciale                                                                                         | 0,5%        |
| Témoin | Sans antioxydants ajoutés                                                                                           | /           |

Tableau 1 : formulations de conservateurs alternatifs pour la première série d'essai

La formulation de base employée pour ces essais fut la suivante :

- Mélange épaule 4D + bardière à 20% de MG
- Sel 2.6%
- Sucres : dextrose et lactose
- Ferment modéré MF55 + ferment anti-listeria BLC 48
- Epices 0.2%
- Acide ascorbique 0,2%

Au cours de la fabrication des produits, les cinétiques de perte de poids et de pH ont été suivis. Le pH a été mesuré à J0 / J2 / J4 / J6 / J10 / J21, les pertes de poids à J0 / J2 / J4 / J6 / J14 / J17 / J10 / J21.

Une photographie des produits a été prise immédiatement après tranchage et 24 h après exposition à l'air.

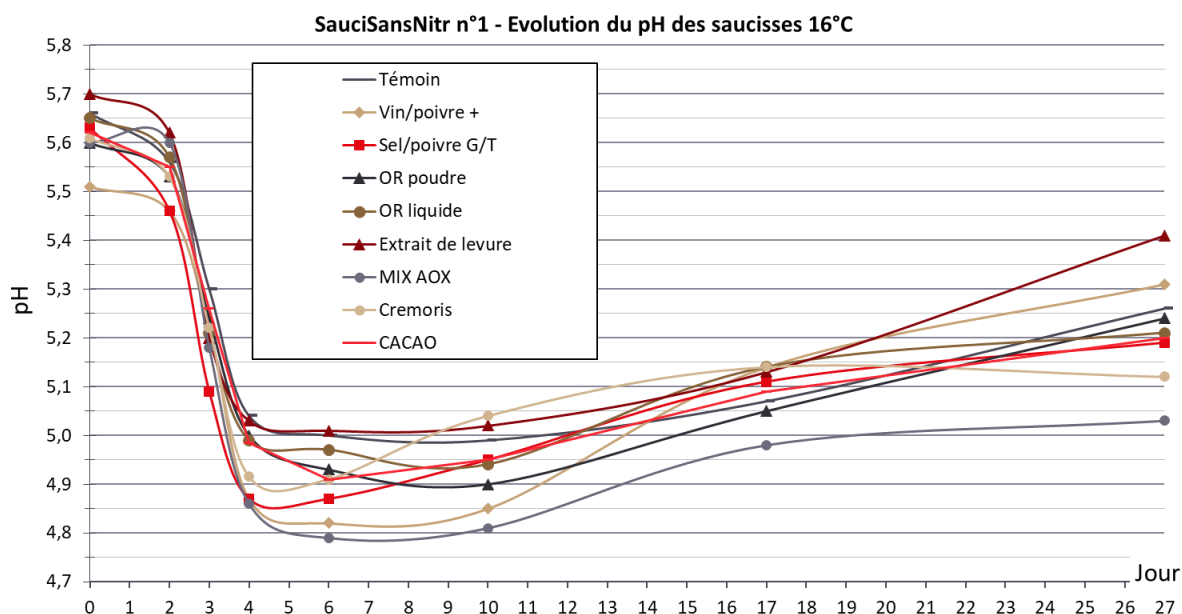
Enfin, une analyse sensorielle a été organisée sur les produits en fin de séchage. Elle n'a concerné que les produits étuvés à 16°C seulement par un panel de 5 dégustateurs ADIV non entraîné. Chaque produit a été noté selon les critères ci-dessous :

- intensité de couleur rouge notée de 1 à 5,
- saveur salée notée de 1 à 5,
- goût positif de saucisson noté de 1 à 5,
- texture sèche notée de 1 à 5,
- texture liée notée de 1 à 5,
- note d'appréciation globale notée de 1 à 10.

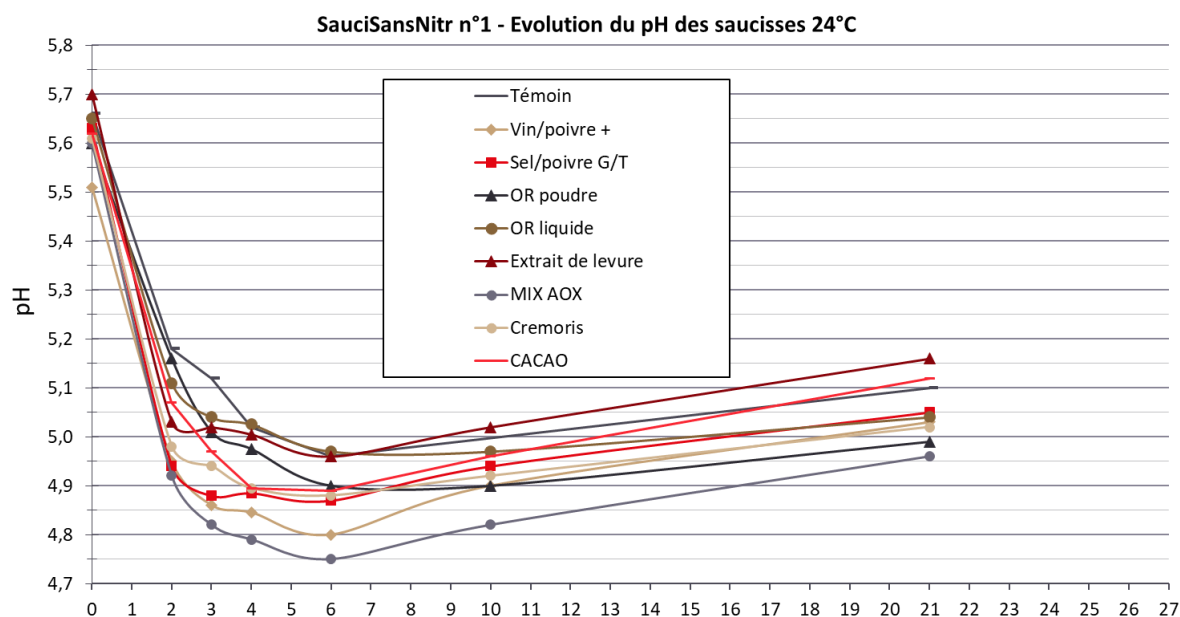
Une ANOVA a permis de déterminer quels résultats sont statistiquement significatifs.

## **22.2 Résultats**

Les figures suivantes permettent d'observer l'évolution du pH des saucissons avec les différents conservateurs alternatifs testés à 16°C (Figure 1) et à 24°C (Figure 2).



*Figure 1 : évolution du pH des saucisses formulées avec des conservateurs alternatifs, étuvage à 16°C / Série n°1*



*Figure 2 : évolution du pH des saucisses formulées avec des conservateurs alternatifs, étuvage à 24°C / Série n°1*

La formulation des saucisses impacte les valeurs de pH. L'apport de vin rouge contribue à abaisser le pH de la mûlée de -0,15 unités et les antioxydants ont un effet promoteur de l'acidification des essais avec un point bas de pH inférieur de -0,1 à -0,2 unités.

La diminution de la température d'étuvage impacte également le procédé de fabrication :

- la durée de process augmente de 6 jours,
- le pH final des saucisses est supérieur de +0,1 unités en moyenne, augmentation liée à la durée de séchage supérieure.

En revanche, aucun effet n'est observé sur le point bas de pH.



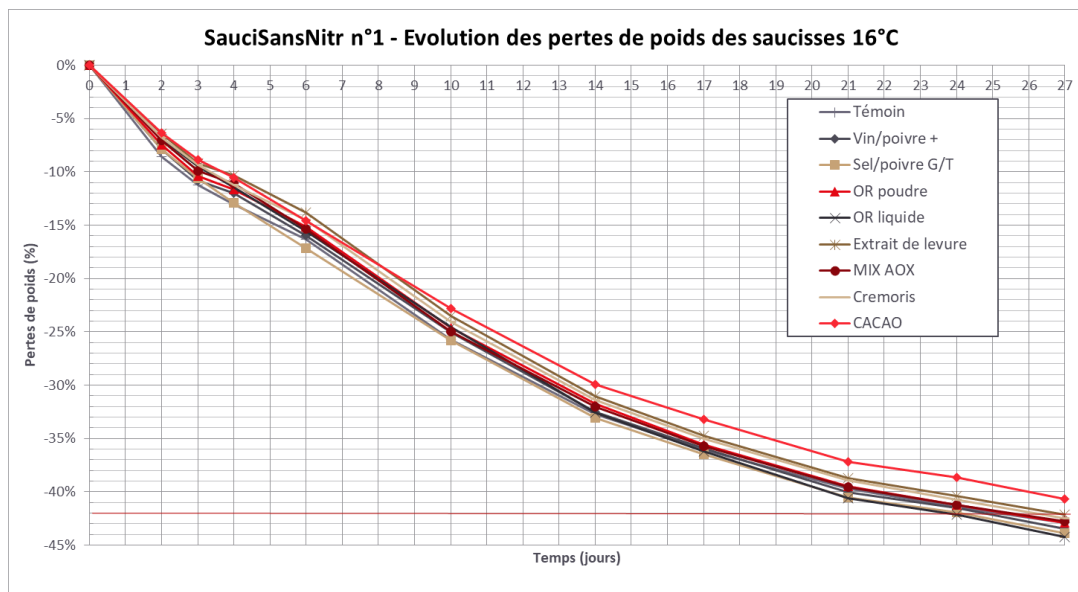


Figure 3 : évolution des pertes de poids des saucisses formulées avec des conservateurs alternatifs, étuvage à 16°C / Série n°1

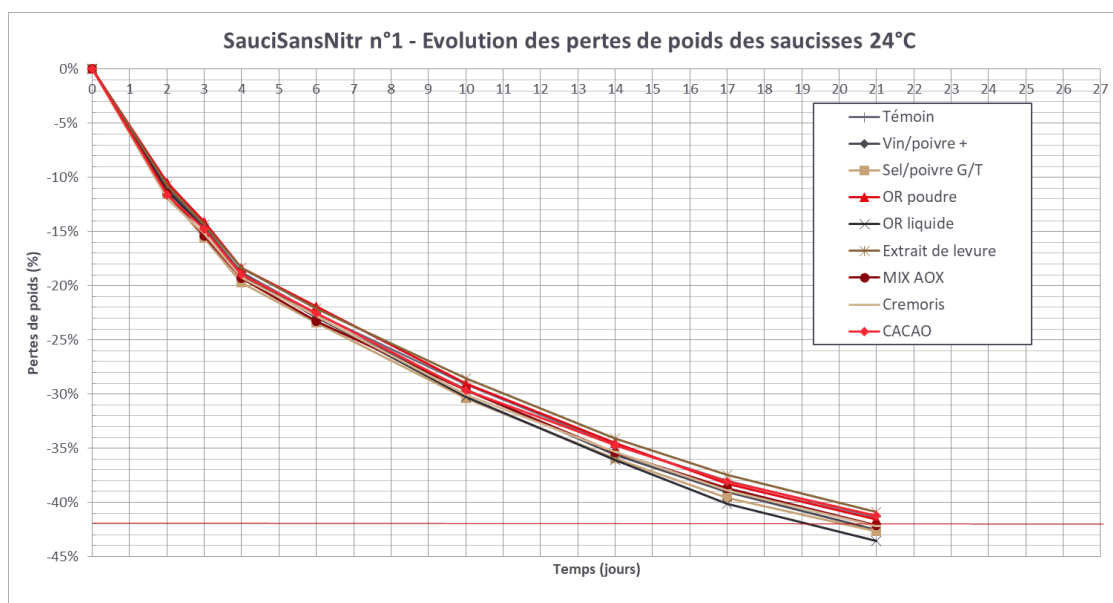


Figure 4 : évolution des pertes de poids des saucisses formulées avec des conservateurs alternatifs, étuvage à 24°C / Série n°1

A 16°C, aucune différence de perte de poids n'est notable entre les essais sauf l'essai avec oignon rouge en poudre qui sèche moins vite. Il s'agit vraisemblablement d'un artéfact lié à la position de l'essai dans la cellule de séchage. A 24°C, aucune différence de perte de poids n'est notable entre les essais.

L'analyse de l'aspect des produits immédiatement après tranchage et après 8h d'exposition à l'air (figure 5) montre que l'effet de l'oxydation est marqué sur tous les essais : les produits deviennent plus ternes et plus foncés après 8h d'exposition à l'air et à température ambiante.

Les essais additionnés d'extrait de levures et de *Lactococcus cremoris* conservent une teinte plus rouge après oxydation. Les essais contenant du cacao et le mix d'antioxydants sont plus marrons que les autres avant oxydation. Les essais étuvés à +24°C semblent avoir une couleur plus vive après 8h d'exposition à l'air que leurs homologues étuvés à 16°C.

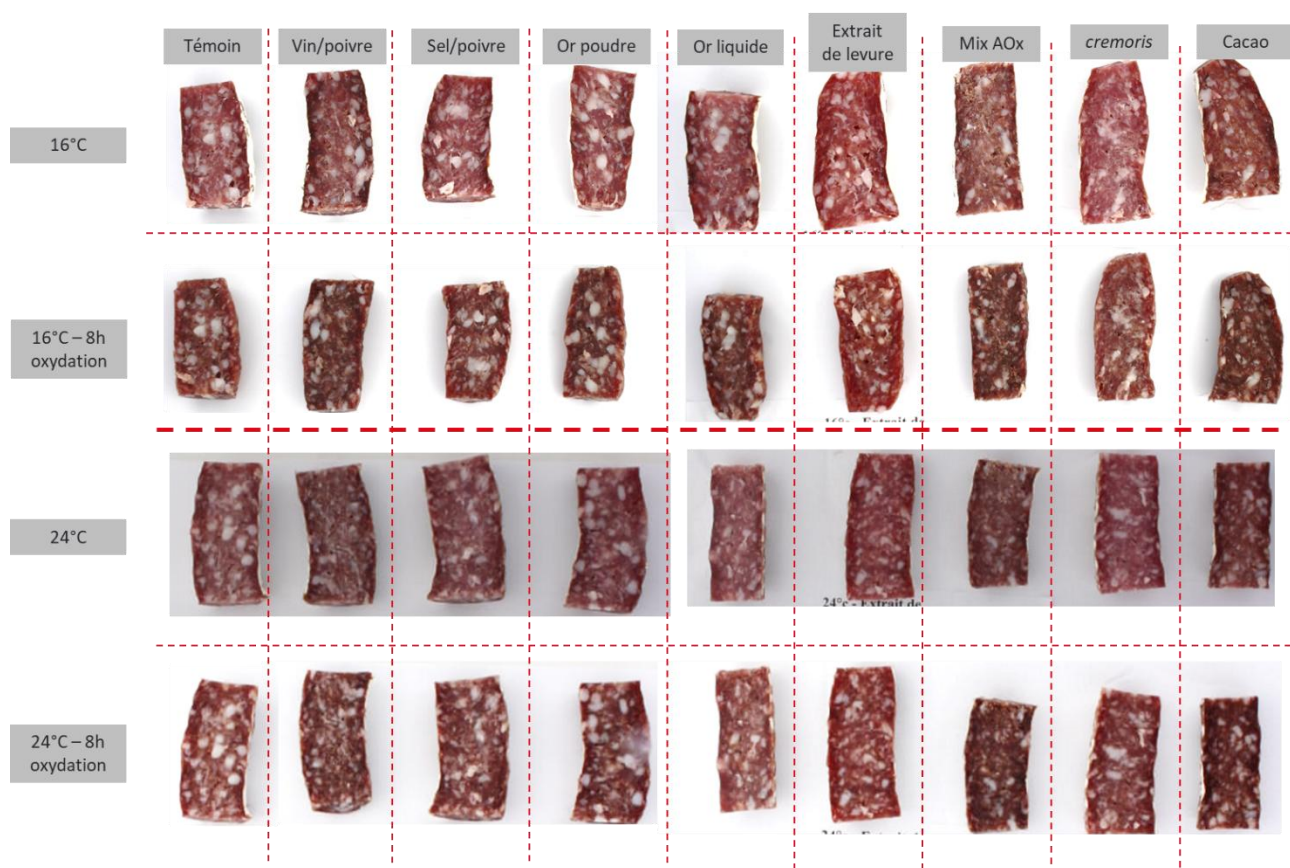
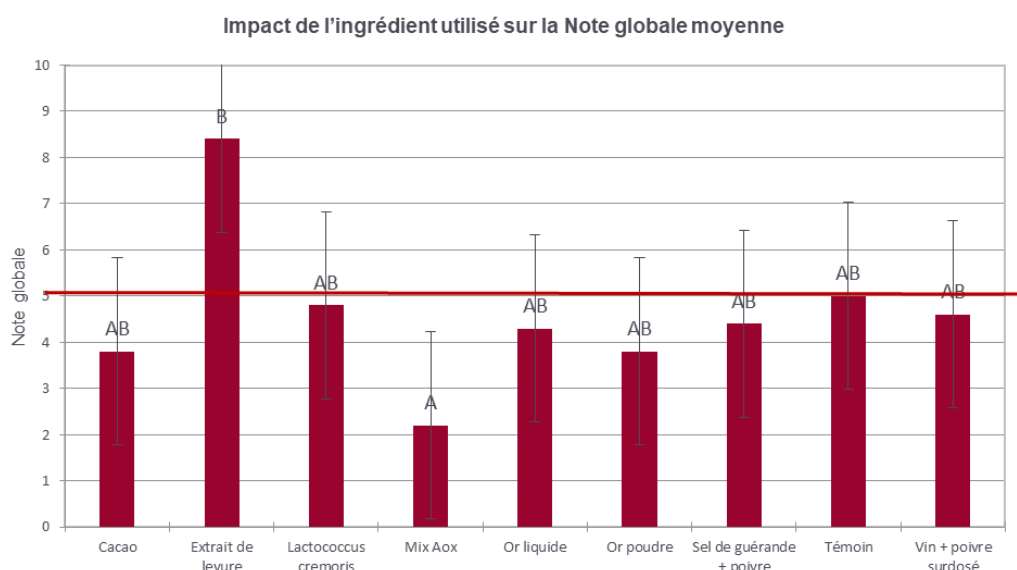


Figure 5 : aspect des produits de la série n°1 immédiatement après tranchage et après 8h d'exposition à l'air (oxydation)

La dégustation des solutions proposées ne met pas en évidence de différences significatives sur les critères descriptifs étudiés. Seule l'appréciation globale présente des différences significatives (figure 6) :

- l'extrait de levure ressort comme la solution à privilégier pour l'appréciation organoleptique globale (note moyenne de 8,4/10) même si son goût positif de saucisson n'atteint que 2 sur 5,
- le mix d'anti-oxydants est la solution la moins performante parmi celles proposées (moyenne de 2,2/10),
- les autres solutions sont similaires (moyennes entre 3,8 et 5/10).



**Figure 6 : impact des ingrédients utilisés sur la note d'appréciation globale moyenne des saucisses sèches**

En conclusion, cette première série d'essai montre que la solution la plus satisfaisante en termes de couleur, de goût et de résistance à l'oxydation est l'extrait de levure, même si sa saveur reste à optimiser. Une grande variété d'extraits de levure est commercialisée et disponible sur le marché. La seconde série d'essais s'est donc attachée à explorer le comportement des extraits de levures proposés par différents fournisseurs. *Lactococcus cremoris* a également un intérêt du point de vue de la couleur et du goût, et peut être utilisé en complément de l'extrait de levure. Certains essais de la série 2 ont donc associé extrait de levure et *Lactococcus cremoris*. Enfin, la baisse de la température d'étuvage à +16°C conduit à un pH final supérieur de +0,1 en moyenne, lié à la durée de séchage supérieure et la couleur des produits élaborés avec ce barème semble moins stable après 8 h d'exposition à l'air.

## **2.3. Seconde série de tests**

### **23.1 Matériels et méthodes**

Au cours de cette série d'essais, plusieurs extraits de levures de différents fournisseurs en association ou non avec une souche de *lactococcus cremoris* ont été testés. Ainsi, la série 2 comportait 9 formulations différentes (tableau 2), toutes élaborées sans salpêtre, sans nitrite de sodium, avec 2g/kg d'acide ascorbique, avec ferment bioconservateur et ferment d'acidification. Un témoin négatif sans conservateur et sans antioxydants a également été élaboré.

9 essais ont été embossés sous menu de porc en format saucisse et 7, en format saucisson sous chaudin **soit un total de 16 tests.**

Tous les essais ont été étuvés à +16°C pour maîtriser le danger *Salmonella*. Les saucisses ont été séchées à +13°C jusqu'à atteindre -43% de pertes, les chaudins jusqu'à atteindre -45% de perte (37 jours).

Un séchage plus poussé jusqu'à atteindre -46,7% de pertes a également été expérimenté sur les saucisses pour étudier l'impact du niveau de sèche sur la stabilité de couleur.

| Essai                                               | Calibre                             |
|-----------------------------------------------------|-------------------------------------|
| Témoin négatif sans conservateurs sans antioxydants | Saucisse (40mm) et saucisson (56mm) |
| S6                                                  | Saucisse (40mm) et saucisson (56mm) |
| S1                                                  | Saucisse (40mm) et saucisson (56mm) |
| S2 0                                                | Saucisse (40mm) et saucisson (56mm) |
| S5                                                  | Saucisse (40mm)                     |
| S0                                                  | Saucisse (40mm)                     |
| SF                                                  | Saucisse (40mm) et saucisson (56mm) |
| SF + <i>cremoris</i>                                | Saucisse (40mm) et saucisson (56mm) |
| S6 + <i>cremoris</i>                                | Saucisse (40mm) et saucisson (56mm) |

*Tableau 2 : descriptif de différents essais de la série n°2*

Au cours de la fabrication des produits, les cinétiques de perte de poids et de pH ont été suivis. Le pH a été mesuré à J0 / J3 / J6 / J17 / J24 / J28, les pertes de poids à J0 / J3 / J7 / J17 / J25 / J28 / J31 / J35 / J37. Une photographie des produits a été prise immédiatement après tranchage et après 24h et 72h d'exposition à l'air. Les caractéristiques colorimétriques des produits ont été évaluées avec un spectrocolorimètre MINOLTA CR410 immédiatement après tranchage et 24h après exposition à l'air (n=3 / essai / échéance).

Enfin, une analyse sensorielle a été organisée sur les saucisses et saucissons en fin de séchage par un panel de 6 dégustateurs ADIV non entraîné. Chaque produit a été noté selon les critères ci-dessous :

- intensité de couleur rouge notée de 1 à 5,
- goût positif de saucisson noté de 1 à 5,
- texture sèche notée de 1 à 5,
- texture croulée notée de 1 à 5,
- note d'appréciation globale notée de 1 à 10.

Une ANOVA a permis de déterminer quels résultats sont statistiquement significatifs.

### **23.2 Résultats**

Les mêlées de la série 2 sont plus acides que celles de la série 1 à J0. Le pH moyen à J0 vaut 5,51 pour les produits de la série 2 contre 5,62 en moyenne pour celui de la série 1 (figures 7 et 8). Cette différence est due à l'emploi d'un lot de viande plus acide lors de la seconde série d'essais. En conséquence, les pH minima en fin d'acidification sont bas pour les saucisses

comme pour les saucissons avec une valeur moyenne à 4,85 pour les saucisses et 4,80 pour les saucissons. En ce qui concerne la remontée de pH, celle-ci est plus rapide et atteint des valeurs plus élevées pour les essais contenant des extraits de levures comparativement au témoin.

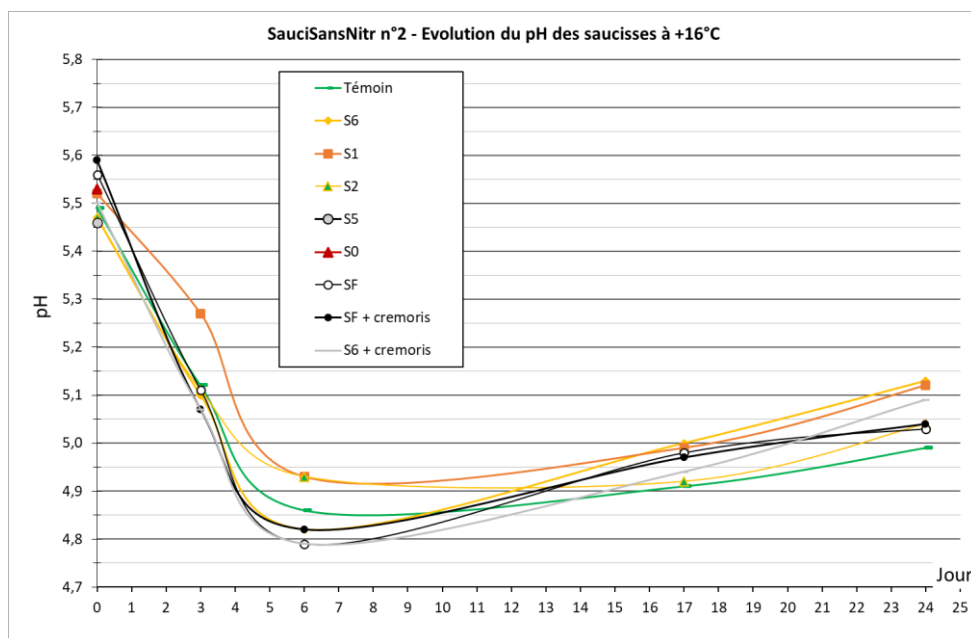


Figure 7 : évolution du pH des saucisses formulées avec des conservateurs alternatifs, étuvage à 16°C / Série n°2

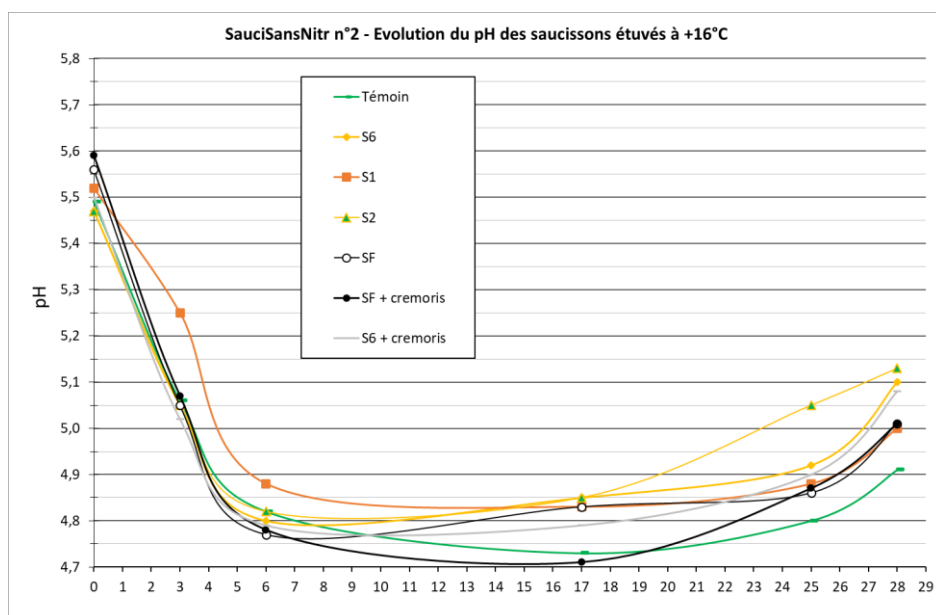


Figure 8 : évolution du pH des saucissons formulés avec des conservateurs alternatifs, étuvage à 16°C / Série n°2

L'extrait de levure S1 se distingue des autres essais pour les deux formats de produits. Il ralentit et limite l'acidification (tableau 3).

|                           | pH bas mesuré (menus) | Jour de mesure du pH bas (menus) | pH bas mesuré (chaudins) | Jour de mesure du pH bas (chaudins) |
|---------------------------|-----------------------|----------------------------------|--------------------------|-------------------------------------|
| S1                        | 4,93                  | 6                                | 4,8                      | 6                                   |
| Moyenne des autres essais | 4,84                  | 6                                | 4,88                     | 6                                   |

Tableau 3 : comportement en acidification de l'essai avec S1 / Série n°2

Les extraits de levure testés n'ont pas d'impact sur la perte de poids (figures 9 et 10). La durée de séchage moyenne des saucisses est de 20 jours sans séchage complémentaire et de 28 jours avec séchage complémentaire, celle des saucissons, de 37 jours.

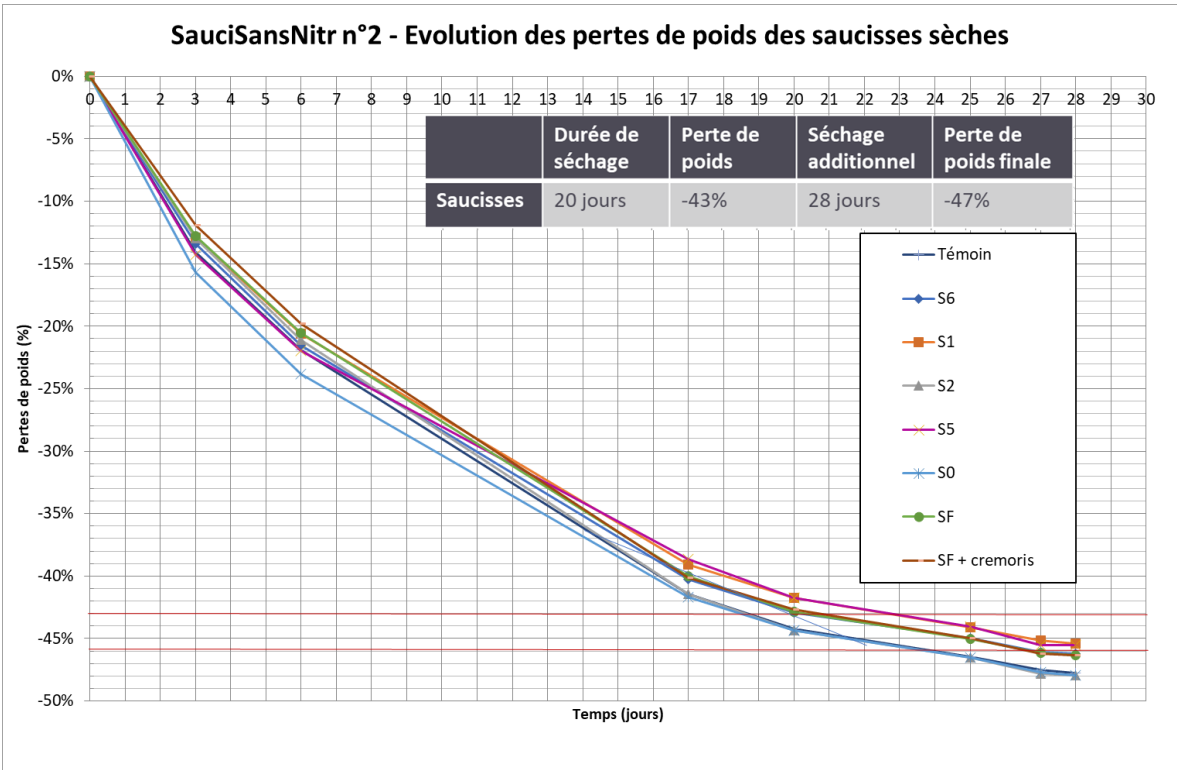
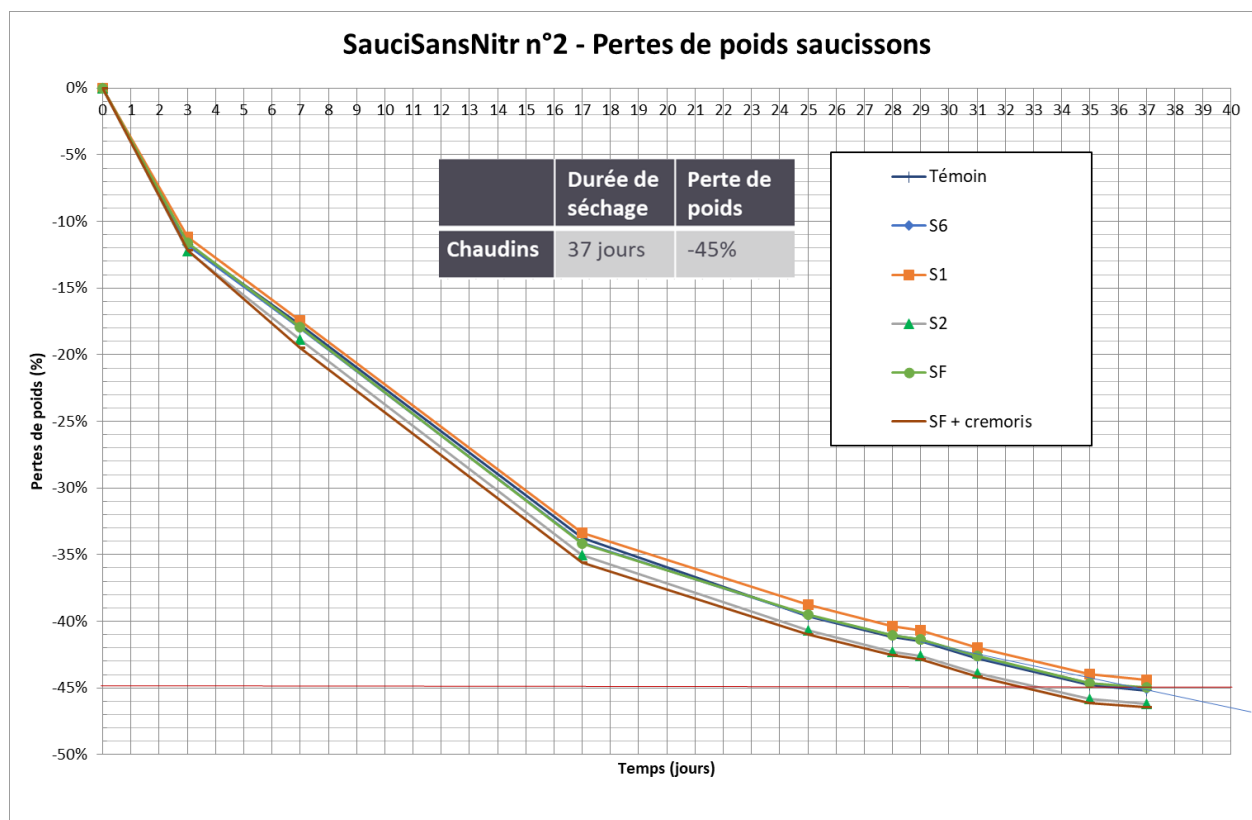


Figure 9 : évolution des pertes de poids des saucisses formulées avec des conservateurs alternatifs, étuvage à 16°C / Série n°2



*Figure 10 : évolution des pertes de poids des saucissons formulés avec des conservateurs alternatifs, étuvage à 16°C / Série n°2*

L'aspect des 7 essais de saucisson est satisfaisant immédiatement après tranchage. En revanche, après 20h d'exposition à l'air, seuls les essais S1 et SF gardent un visuel acceptable (figure 11).



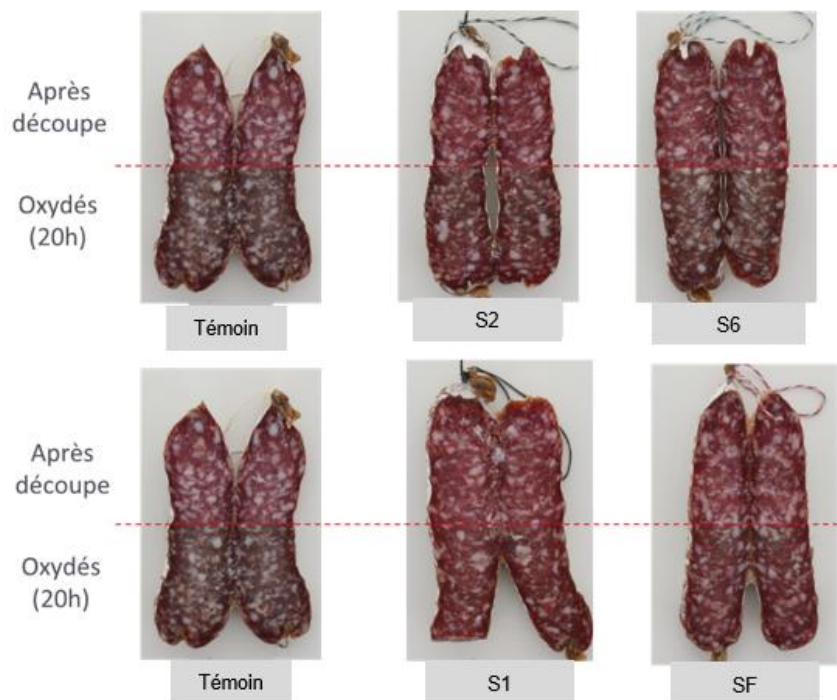
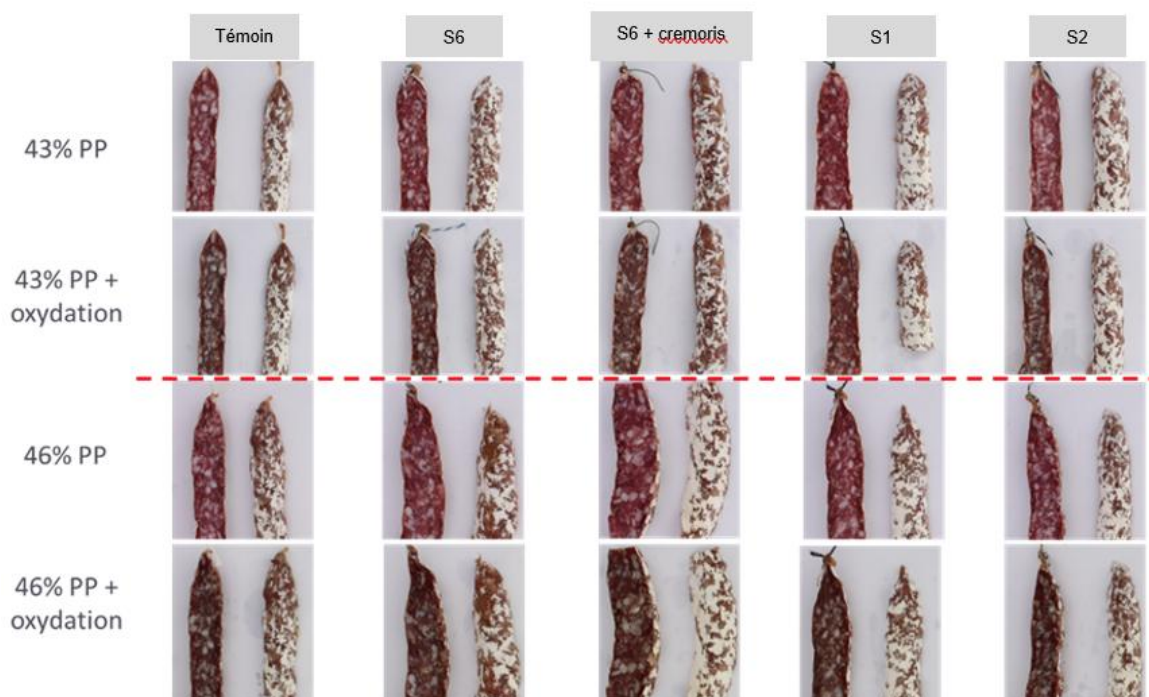
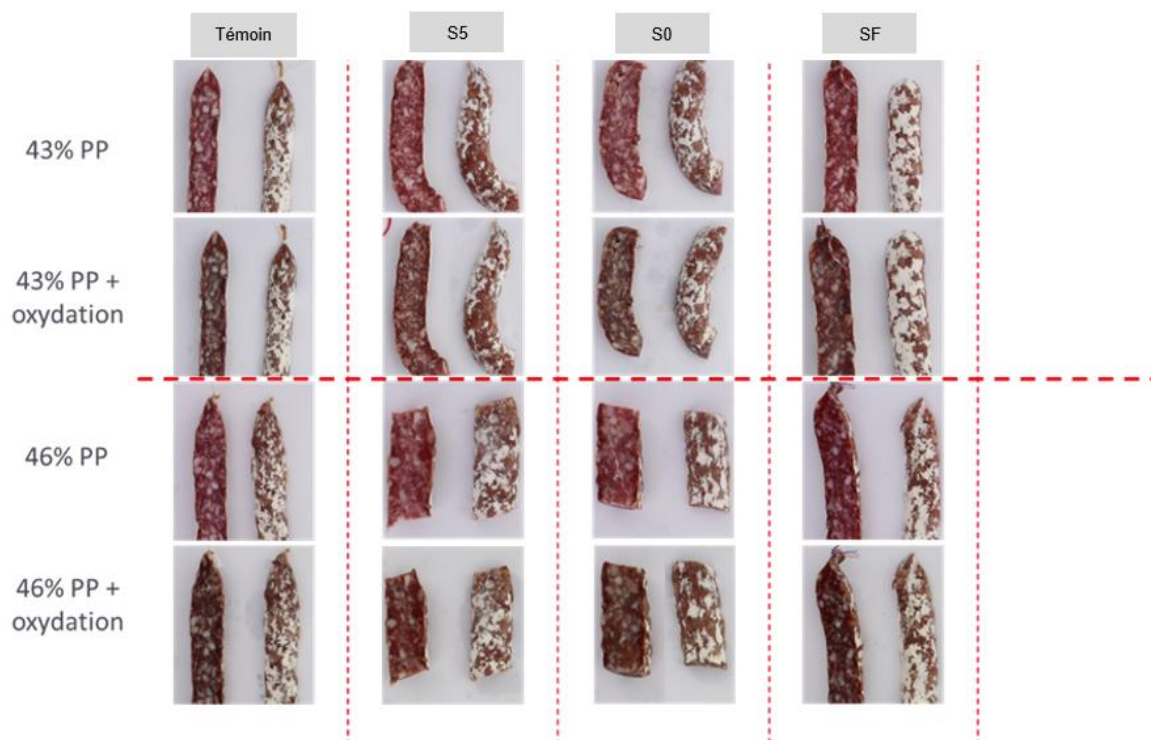


Figure 11 : aspect des saucissons de la série n°2 immédiatement après tranchage et après 20h d'exposition à l'air (oxydation)

Comme pour les saucissons, l'aspect des 9 essais de saucisses sèches est satisfaisant immédiatement après tranchage et après 20h d'exposition à l'air, seuls les essais S1 et SF gardent un visuel acceptable (figure 12).







*Figure 12 : aspect des saucisses de la série n°2 immédiatement après tranchage et après 20h d'exposition à l'air (oxydation) - PP = perte de poids*

Immédiatement après tranchage, la teinte rouge  $a^*$  des saucisses vaut 12,5 en moyenne et l'angle de teinte  $h^*$ , 19 (figure 13). Après exposition à l'oxygène de l'air, la teinte rouge  $a^*$  de toutes les modalités diminue ( $a^* = 6,4$ ) et l'angle de teinte  $h^*$  augmente (38,3). Dans cette tendance, l'essai SF garde les caractéristiques les plus acceptables et semble avoir une meilleure résistance à l'oxydation (tableau 4a).

Le séchage complémentaire à 46% n'a pas d'effet bénéfique sur les indicateurs de couleur. Les  $a^*$  et  $h^*$  moyens ne sont pas significativement différents (tableau 4b) après 20h d'exposition à l'air.

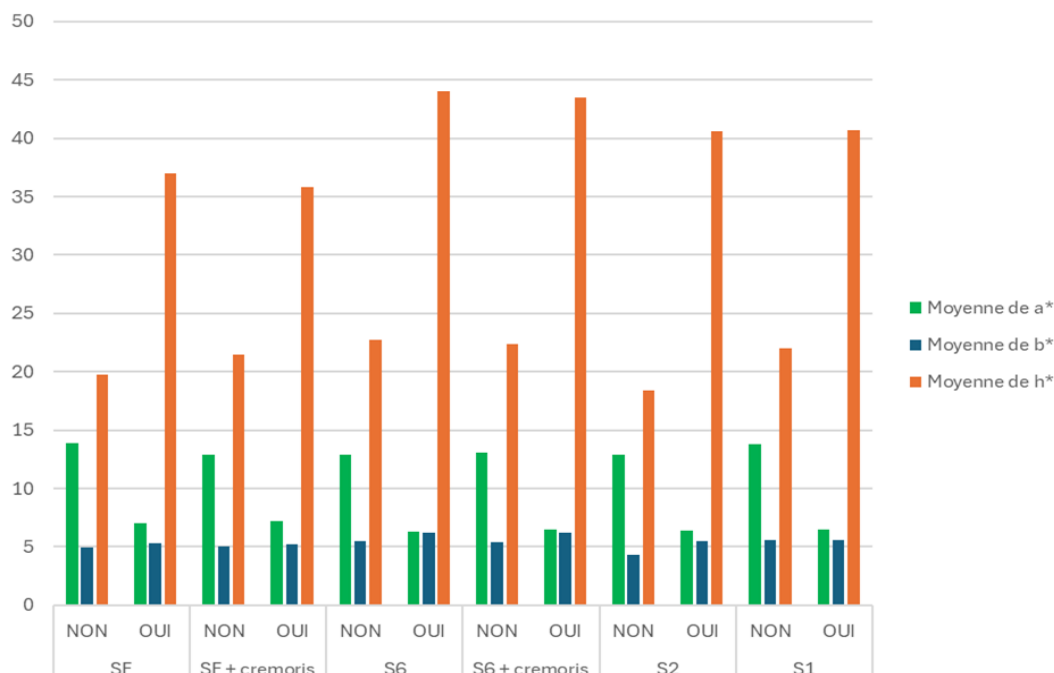


Figure 13 : caractéristiques colorimétriques des saucisses de la série n°2 immédiatement après tranchage (NON) et après 20h d'exposition à l'air (OUI)

| Modalité        | a*         | b*       | h*        |
|-----------------|------------|----------|-----------|
| SF              | 10,416 d   | 5,131 bc | 28,349 a  |
| S1              | 10,164 cd  | 5,583 cd | 31,320 bc |
| SF + cremoris   | 10,053 bcd | 5,141 bc | 28,608 ab |
| S6 + cremoris   | 9,789 bc   | 5,803 d  | 32,905 c  |
| S6              | 9,627 b    | 5,815 d  | 33,405 c  |
| S2              | 9,620 b    | 4,897 ab | 29,460 ab |
| Témoin          | 9,034 a    | 4,510 a  | 28,921 ab |
| p-value         | <0,0001    | <0,0001  | <0,0001   |
| Significativité | xxx        | xxx      | xxx       |

| Modalité        | a*       | b*      | h*       |
|-----------------|----------|---------|----------|
| 43% * NON       | 13,658 c | 5,643 c | 22,432 b |
| 43% * OUI       | 6,665 a  | 5,999 c | 41,907 d |
| 46% * NON       | 12,500 b | 4,349 a | 19,023 a |
| 46% * OUI       | 6,436 a  | 5,083 b | 38,335 c |
| p-value         | <0,0001  | 0,065   | 0,871    |
| Significativité | xxx      | Non     | Non      |

Tableau 4 : caractéristiques colorimétriques moyennes des essais de saucisses de la série 2 (tableau 4a à gauche) et effet de la perte de poids complémentaire (tableau 4b à droite) (Oui : exposition 20h à l'air / NON : immédiatement après tranchage)

Pour les saucissons, la teinte rouge  $a^*$  immédiatement après tranchage, vaut 15,1 en moyenne et l'angle de teinte  $h^*$  20,6. Après exposition à l'oxygène, la teinte rouge  $a^*$  de toutes les modalités diminue ( $a^* = 7,5$ ) et l'angle de teinte  $h^*$  augmente ( $h^* = 43$ ). Les essais S1 et surtout SF gardent les caractéristiques les plus acceptables et semblent avoir une meilleure résistance à l'oxydation (tableau 6).

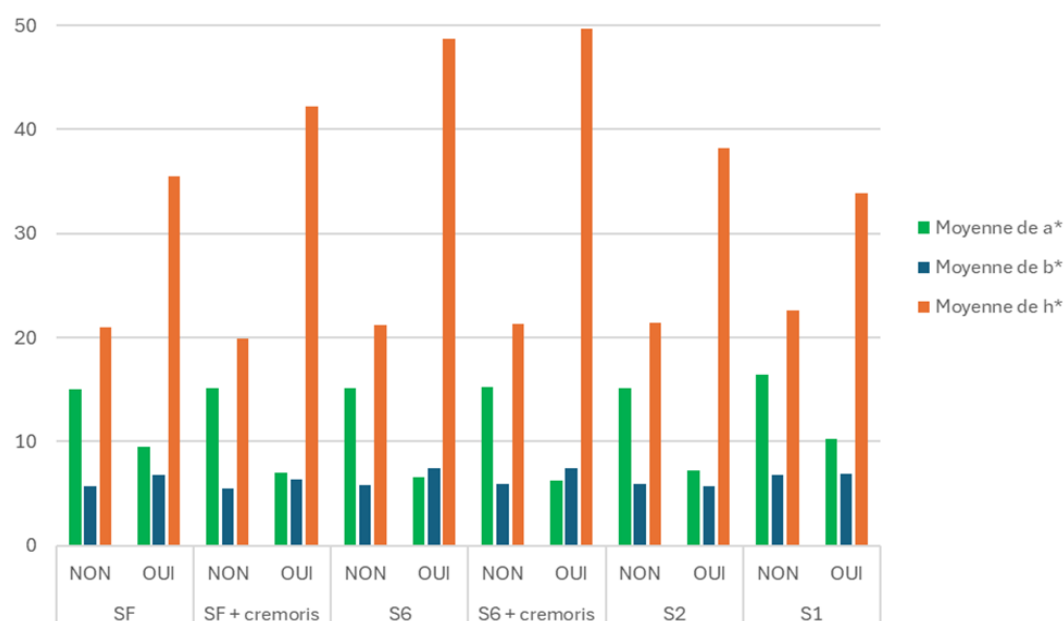


Figure 14 : caractéristiques colorimétriques des saucissons de la série n°2 immédiatement après tranchage (NON) et après 20h d'exposition à l'air (OUI)

| Modalité        | a*       | b*        | h*       |
|-----------------|----------|-----------|----------|
| S1              | 13,355 d | 6,875 c   | 28,255 a |
| S6              | 10,845 b | 6,685 c   | 34,986 b |
| S6 + cremoris   | 10,750 b | 6,673 bc  | 35,500 b |
| SF              | 12,290 c | 6,277 abc | 28,211 a |
| SF + cremoris   | 11,112 b | 5,945 ab  | 31,075 a |
| S2              | 11,213 b | 5,832 a   | 29,820 a |
| Témoin          | 9,667 a  | 5,657 a   | 34,694 b |
| p-value         | <0,0001  | <0,0001   | <0,0001  |
| Significativité | xxx      | xxx       | xxx      |

Tableau 6 : caractéristiques colorimétriques moyennes des essais de saucissons de la série 2

Sur le champ des caractéristiques sensorielles, la dégustation des solutions mises en œuvre sur les saucisses ne met pas en évidence de différences significatives sur les critères couleur rouge, caractère croulé, goût positif et texture sèche (tableau 6). Seule l'appréciation globale présente des différences presque significatives ( $p=5,2\%$ ). S0 ressort comme la solution la plus performante pour l'appréciation organoleptique globale (moyenne de 7,3 sur 10) même si sa couleur n'est pas optimale, suivi par l'extrait S2. S1 est la solution la moins performante parmi celles proposées (moyenne de 4,2 sur 10). Les autres solutions et le témoin sont similaires (moyennes entre 5,7 et 6,5 sur 10).

| Modalité                | Couleur rouge  | Caractère croûté | Texture sèche  | Goût positif   | Note globale   |
|-------------------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|
| SF                      | 3,583 a        | 2,400 a          | 3,667 a        | 3,833 a        | 5,667 ab       |
| S1                      | 4,000 a        | 2,600 a          | 3,667 a        | 2,833 a        | 4,167 a        |
| S2                      | 3,500 a        | 2,200 a          | 3,333 a        | 3,750 a        | 6,500 ab       |
| <b>S0</b>               | <b>3,500 a</b> | <b>2,000 a</b>   | <b>3,167 a</b> | <b>3,833 a</b> | <b>7,333 b</b> |
| Témoin                  | 3,417 a        | 2,200 a          | 3,333 a        | 2,667 a        | 5,917 ab       |
| p-value (effet extrait) | 0,933          | 0,926            | 0,715          | 0,154          | 0,052          |
| Significativité         | Non            | Non              | Non            | Non            | Tendance       |

*Tableau 6 : caractéristiques sensorielles moyennes des essais de saucisses de la série 2*

Concernant l'appréciation sensorielle des saucissons, la dégustation des solutions proposées, comme pour les saucisses, ne met pas en évidence de différences significatives sur les critères couleur rouge, caractère croûté, goût positif, texture sèche et note globale (tableau 7). Seule l'appréciation globale présente une tendance à avoir des différences significatives ( $p=6,2\%$ ). **S2** ressort comme solution à privilégier pour l'appréciation organoleptique (moyenne de 7,0 sur 10). S1 est la solution la moins performante parmi celles proposées (moyenne de 4,3 sur 10). Les autres solutions et le témoin sont similaires (moyennes entre 5,7 et 6,1 sur 10).

| Modalité                | Couleur rouge  | Caractère croûté | Texture sèche  | Goût positif   | Note globale   |
|-------------------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|
| <b>S2</b>               | <b>3,500 a</b> | <b>2,200 a</b>   | <b>3,500 a</b> | <b>3,917 a</b> | <b>7,000 b</b> |
| SF                      | 3,583 a        | 2,400 a          | 3,500 a        | 3,833 a        | 5,667 ab       |
| S1                      | 3,833 a        | 2,600 a          | 3,500 a        | 3,167 a        | 4,333 a        |
| Témoin                  | 3,417 a        | 2,200 a          | 3,667 a        | 3,000 a        | 6,083 ab       |
| p-value (effet extrait) | 0,947          | 0,930            | 0,955          | 0,238          | 0,064          |
| Significativité         | NS             | NS               | NS             | NS             | Tendance       |

*Tableau 7 : caractéristiques sensorielles moyennes des essais de saucissons de la série 2*

En conclusion, les meilleures stabilités de couleur ont été obtenues avec les solutions SF et S1. Toutefois, au niveau sensoriel, ce sont les solutions S0 et S2 qui obtiennent les meilleurs résultats organoleptiques sur le champ de l'appréciation globale et du goût. Le séchage complémentaire de -43% à -46% de pertes de poids testé sur les saucisses n'a pas amené de plus-values aux produits.

**Compte tenu des caractéristiques sensorielles attendues sur un saucisson sec ou une saucisse sèche sans conservateur, tant sur la couleur que sur le goût, l'extrait de levure S2 représente le meilleur compromis et a été retenu pour effectuer la troisième série d'essais, au cours de laquelle l'impact des températures et des pertes de poids durant le séchage et la conservation ont été étudiées.**

## 2.4. Troisième série

### 24.1 Matériels et méthodes

L'objectif de la dernière série d'essai était d'étudier l'impact de 7 conditions de séchage et de conservation décrites dans le tableau 8 ci-dessous afin d'optimiser la couleur des produits élaborés avec l'extrait de levure S2. En effet, les extraits de levure, par leur fort pouvoir antioxydant, peuvent activer la formation de ZnPP, pigment naturel qui se forme dans les jambons secs à longue durée de fabrication et il est important de déterminer si la température de séchage, la température de conservation ou la durée du procédé est en mesure d'améliorer la formation de ZnPP dans le procédé d'élaboration du saucisson sec.

| Conditions testées | Perte visée fin de séchage | Température de séchage | Durée de conservation (sachets macroperf) | Perte visée fin de conservation | Température de conservation |
|--------------------|----------------------------|------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| A                  | -41%                       | 13°C                   |                                           |                                 |                             |
| B                  | -50%                       | 13°C                   |                                           |                                 |                             |
| C                  | -41%                       | 13°C                   | Jusqu'à 50% PP                            | -50%                            | 13°C                        |
| D                  | -41%                       | 13°C                   | Jusqu'à 50% PP                            | -50%                            | 20°C                        |
| F                  | -41%                       | 16°C                   |                                           |                                 |                             |
| G                  | -41%                       | 16°C                   | Jusqu'à 50% PP                            | -50%                            | 20°C                        |

Tableau 8 : conditions de séchage et de conservation expérimentées lors de la 3<sup>ème</sup> série d'essais

3 recettes ont été testées :

- Témoin positif (T+) AVEC salpêtre (KNO<sub>3</sub>) SANS acide ascorbique, ni ferment bioconservateur, ni extrait de levure,
- Témoin négatif (TN) SANS salpêtre (KNO<sub>3</sub>), AVEC acide ascorbique (2 g/kg) et ferment bioconservateur, mais SANS extrait de levure,
- ESSAI SANS salpêtre (KNO<sub>3</sub>), AVEC acide ascorbique (2g/kg) et ferment bioconservateur et AVEC extrait de levure S2 (0,5%) mis en avant lors de la seconde série d'essais.

La formulation T+ n'a été appliquée qu'aux conditions A et B. Au total, **15 tests ont donc été conduits.**

Toutes les mêlées ont été embossées sous format chaudin (diamètre 54/58 mm) et ont été étuvées à +16°C.

Au cours de la fabrication des produits, les cinétiques de perte de poids et de pH ont été suivis. Le pH a été mesuré à J0 / J3 / J5 / J7 / J14 / J20 / J25, les pertes de poids à J0 / J3 / J7 / J14 / J20 / J21 / J24 / J25, date à laquelle les -41% de pertes de poids visées ont été atteintes

pour les conditions A, C, D, E, F, et G. Pour la condition B, la mesure des pertes de poids a été poursuivie jusqu'à J46.

Une photographie des produits a été prise immédiatement après tranchage et 20 h après exposition à l'air. Les caractéristiques colorimétriques des produits ont été évaluées avec un spectrophotomètre MINOLTA CR410 immédiatement après tranchage et 24 h après exposition à l'air (n=3 / essai / échéance).

Enfin, une analyse sensorielle a été organisée sur les saucisses et saucissons en fin de séchage par un panel de 6 dégustateurs ADIV non entraîné. Chaque produit a été noté selon les critères ci-dessous :

- intensité de couleur rouge notée de 1 à 5,
- saveur salée notée de 1 à 5,
- goût positif de saucisson noté de 1 à 5,
- texture sèche notée de 1 à 5,
- texture liée notée de 1 à 5,
- note d'appréciation globale notée de 1 à 10.

Une ANOVA a permis de déterminer quels résultats sont statistiquement significatifs.

## **24.2 Résultats**

Le bilan des durées de séchage et de conservation est repris dans le tableau 9.

| Conditions testées | Perte visée fin de séchage | Température de séchage | Durée de séchage | Durée de conservation (sachets macroperf) | Perte visée fin de conservation | Température de conservation |
|--------------------|----------------------------|------------------------|------------------|-------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| A                  | -41%                       | 13°C                   | 25 jours         | 0 jours                                   | /                               | /                           |
| B                  | -50%                       | 13°C                   | 46 jours         | 0 jours                                   | /                               | /                           |
| C                  | -41%                       | 13°C                   | 25 jours         | 90 jours                                  | -50%                            | 13°C                        |
| D                  | -41%                       | 13°C                   | 25 jours         | 44 jours                                  | -50%                            | 20°C                        |
| F                  | -41%                       | 16°C                   | 21 jours         | 0 jours                                   | /                               | /                           |
| G                  | -41%                       | 16°C                   | 21 jours         | 48 jours                                  | -50%                            | 20°C                        |

*Tableau 9 : bilan des durées de séchage et de conservation obtenues lors de la 3<sup>ème</sup> série d'essais*

La présence de 2g/kg d'acide ascorbique dans les recettes TN et Essai influencent l'évolution du pH. Leur pH est inférieur à celui du témoin de -0,05 unités pour le témoin négatif et de -0,1 unité pour l'essai (figure 15).

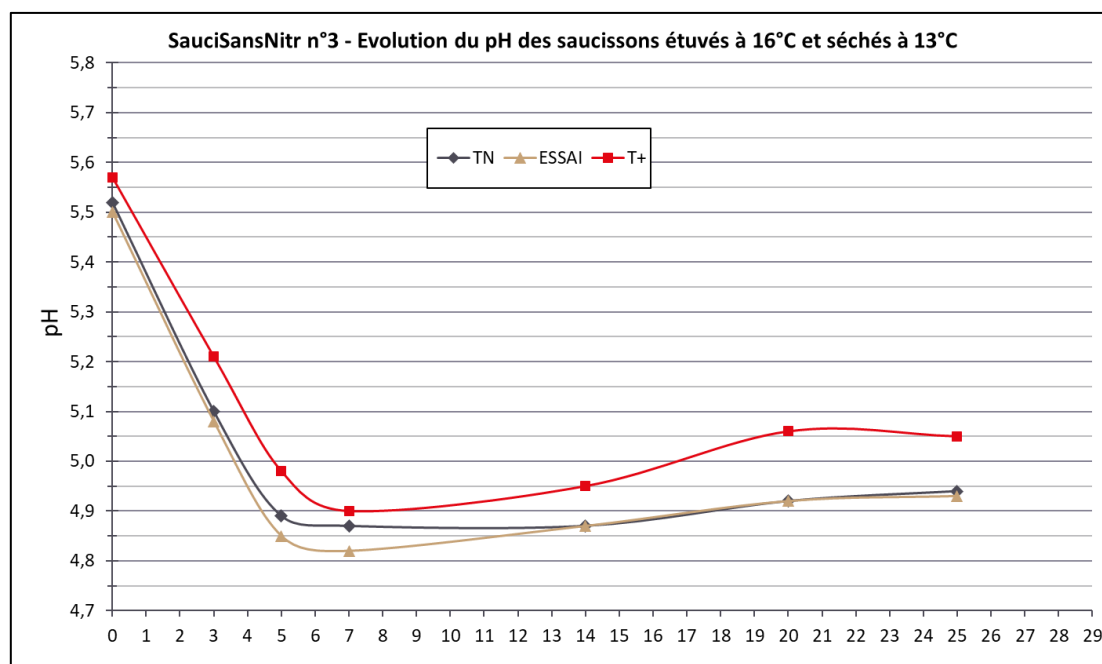


Figure 15 : Evolution du pH poids des saucissons formulés avec des conservateurs (T+), sans conservateurs (TN) et avec extrait de levure (Essai), étuvage à 16°C / Série n°3

Une température de séchage de +16°C permet de gagner 4 jours de séchage par rapport à un séchage à +13°C (figure 16). **Pendant le séchage en sachets macroperforés à +20°C, la même durée a été nécessaire pour atteindre -50% de pertes de poids soit 69 jours au total** quelles que soient les conditions de séchage en amont en séchoir (13°C ou 16°C / conditions D et G).

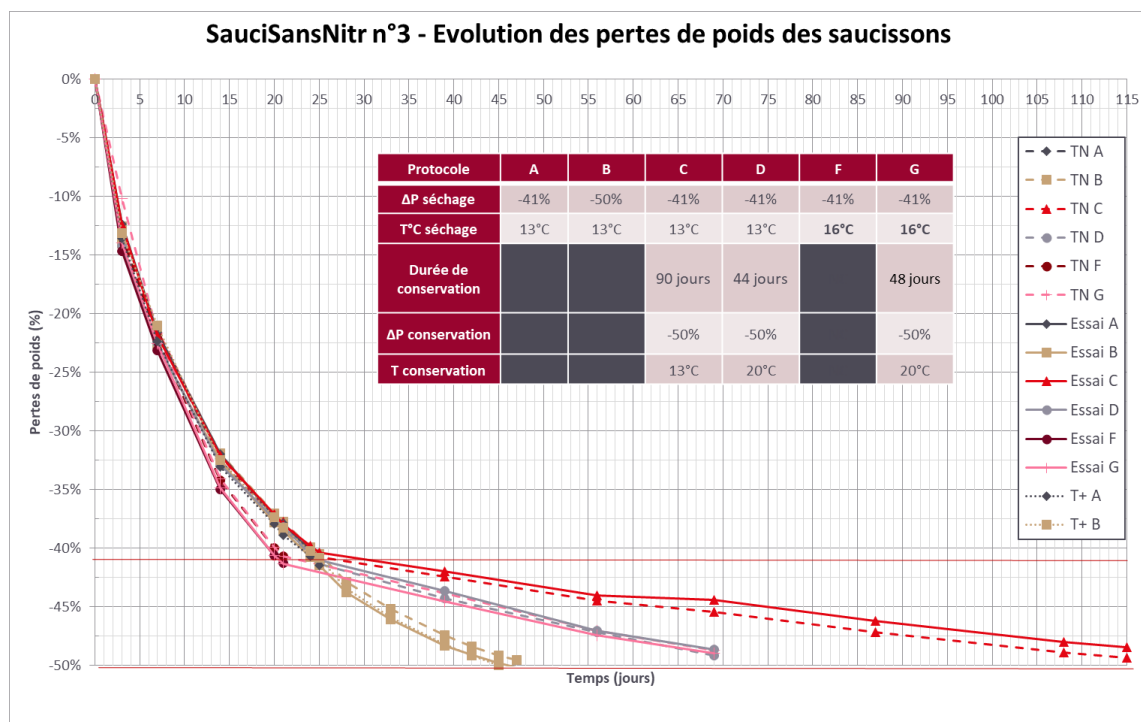


Figure 16 : évolution des pertes de poids des saucissons formulés avec des conservateurs (T+), sans conservateurs (TN) et avec extrait de levure (Essai), étuvage à 16°C / Série n°3

La couleur des produits Essai des conditions A, B, C et D, semble systématiquement plus rouge (figure 17) que celle des témoins négatifs TN. L'obtention de pertes de poids de -50% notamment durant la conservation en sachets (essais C et D) semblent conduire à une couleur rouge plus vive qu'une perte de -41%.

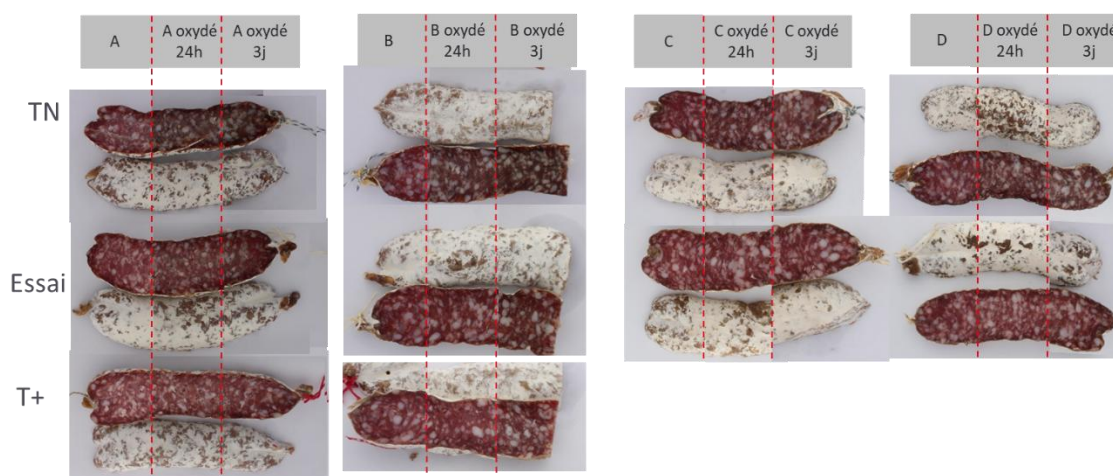


Figure 17 : aspect des saucissons formulés avec des conservateurs (T+), sans conservateurs (TN) et avec extrait de levure (Essai), étuvage à 16°C pour les conditions de séchage / conservation A, B, C et D/ Série n°3



Comme précédemment, la couleur des produits Essai des conditions F et G, semble systématiquement plus rouge que celle des témoins négatifs TN (figure 18). La condition de séchage rallongée (G) confère au saucisson une couleur plus sombre.

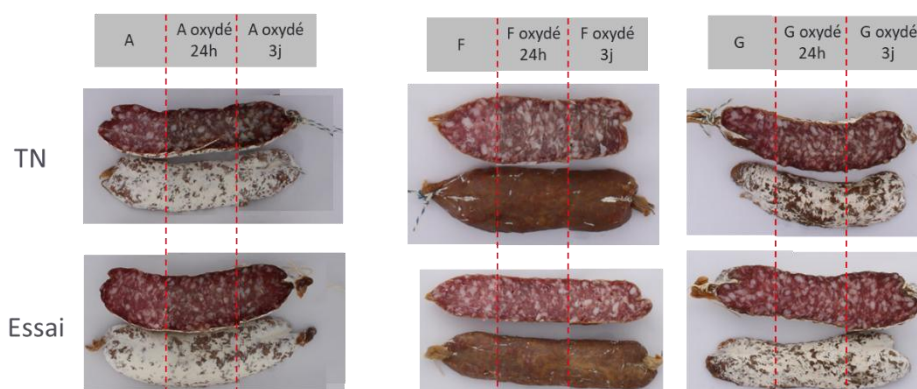


Figure 18 : aspect des saucissons formulés sans conservateurs (TN) et avec extrait de levure (Essai), étuvage à 16°C pour les conditions de séchage / conservation A, F et G / Série n°3

Les graphiques des figures 19a et 19b montrent les valeurs moyennes de  $h^*$  et de  $a^*$  mesurées pour l'ensemble des essais, au moment du tranchage des saucissons (graphique de gauche) ou après 24 h d'exposition à l'air (graphique de droite). Les barres bleues et beige symbolisent les valeurs de  $a^*$  et  $h^*$  respectivement, des témoins positifs pour ces deux échéances de mesure. Comme pour la série d'essais n°2, la teinte rouge moyenne  $a^*$  des saucissons diminue de 12,9 en moyenne à 9,8 et l'angle de teinte moyen  $h^*$  augmente de 25,5 à 37,9, conséquence de l'oxydation de la tranche au contact de l'oxygène. Derrière cette tendance générale, se cachent de grandes disparités. Après oxydation, les témoins négatifs ont des teintes rouge  $a^*$  significativement plus faibles et des angles de teinte  $h^*$  significativement plus élevés que les témoins positifs ( $p < 0,1\%$ ) **tandis que les essais sont comparables aux témoins positifs**. L'extrait de levure améliore donc significativement la couleur des saucissons.

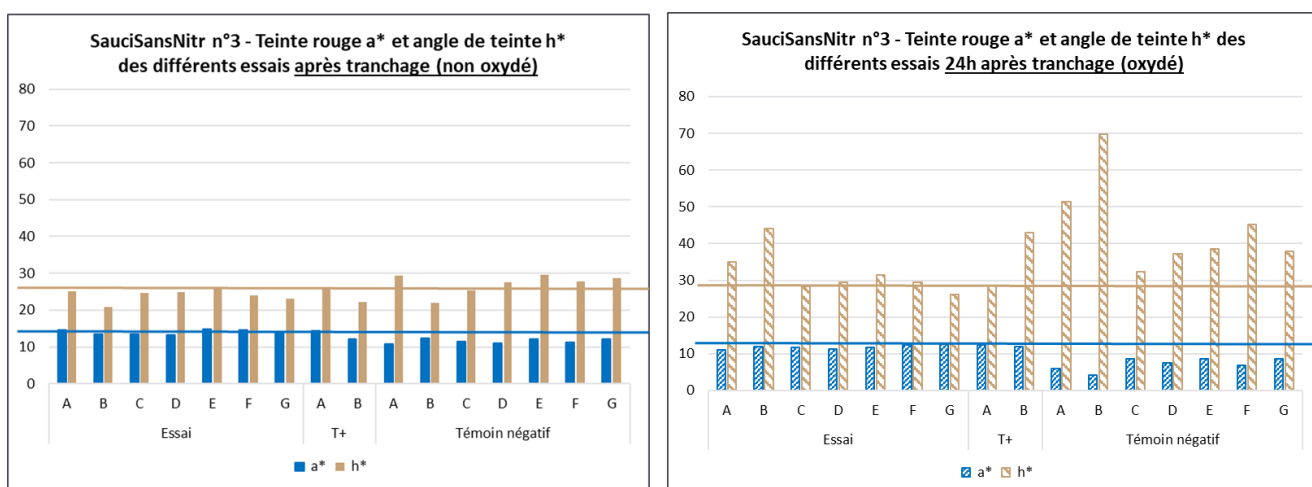


Figure 19 : caractéristiques colorimétriques des saucissons de la série n°3 immédiatement après tranchage (figure 19a à gauche) ou après 24h d'exposition à l'air (figure 19b à droite)

Comme le montre le traitement des données colorimétriques effectuées sur les produits exposés à l'air dans le tableau 10, les modalités Essai C, Essai D, Essai F **et plus particulièrement Essai G**, après oxydation, ont des valeurs de  $h^*$  très proches de celles du témoin positif séché à -41% de pertes. La conservation des produits sous sachet (modalités C, D et G) contribue donc à améliorer la couleur des produits. En alternative, un séchage à +16°C en présence d'extrait de levure plutôt qu'à +13°C (modalité F) permet de se rapprocher de ses résultats en moins de temps.

| Modalité        | $a^*$            | $h^*$              |
|-----------------|------------------|--------------------|
| <b>Essai-G</b>  | <b>12,571 d</b>  | <b>26,068 a</b>    |
| <b>T+-A</b>     | <b>12,453 d</b>  | <b>28,617 ab</b>   |
| T+-B            | 12,030 cd        | 42,899 bcd         |
| Essai-B         | 11,947 cd        | 44,178 bcd         |
| <b>Essai-C</b>  | <b>11,666 cd</b> | <b>28,246 ab</b>   |
| <b>Essai-F</b>  | <b>11,498 cd</b> | <b>31,659 ab</b>   |
| <b>Essai-D</b>  | <b>11,294 cd</b> | <b>29,462 ab</b>   |
| Essai-A         | 10,980 cd        | 34,907 abc         |
| <b>TN-C</b>     | <b>8,612 bc</b>  | <b>32,403 ab</b>   |
| TN-G            | 8,585 bc         | 37,933 abcd        |
| <b>TN-D</b>     | <b>7,617 ab</b>  | <b>37,294 abcd</b> |
| <b>TN-F</b>     | <b>6,213 a</b>   | <b>49,562 cd</b>   |
| <b>TN-A</b>     | <b>6,028 a</b>   | <b>51,433 d</b>    |
| <b>TN-B</b>     | <b>4,197 a</b>   | <b>69,740 e</b>    |
| p-value         | <0,0001          | <0,0001            |
| Significativité | xxx              | xxx                |

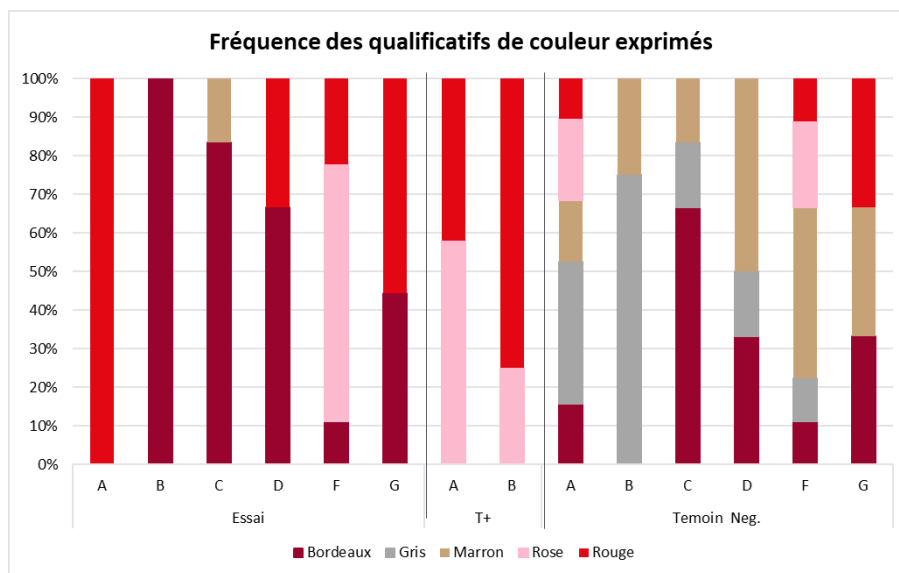
*Tableau 10 : caractéristiques colorimétriques moyennes des différents essais de la série d'essais n°3 après 24h d'exposition à l'air*

En analysant l'effet des modalités pour les formulations « Essai » et « TN » après oxydation (tableau 11), le séchage complémentaire à -50% de perte en conservation (modalités C, D et surtout G) garantit une meilleure stabilité de couleur, alors qu'un séchage direct à -50% de 21 voire 46 jours sans phase de conservation (modalités A, F et B) conduit aux couleurs les moins acceptables. Un séchage complémentaire de 44 jours à 90 jours, en plus des 28 jours de séchage usuels, semble donc être un facteur d'optimisation de la couleur des produits, d'autant plus si celui-ci est réalisé à +20°C.

| Modalité        | $a^*$            | $h^*$             |
|-----------------|------------------|-------------------|
| <b>G</b>        | <b>10,578 c</b>  | <b>32,000 ab</b>  |
| <b>C</b>        | <b>10,139 bc</b> | <b>30,325 a</b>   |
| D               | 9,455 abc        | <b>33,378 abc</b> |
| <b>F</b>        | <b>8,855 ab</b>  | 40,610 bc         |
| <b>A</b>        | <b>8,504 ab</b>  | <b>43,170 c</b>   |
| <b>B</b>        | <b>8,072 a</b>   | <b>56,959 d</b>   |
| p-value         | 0,001            | <0,0001           |
| Significativité | xxx              | xxx               |

*Tableau 11 : effet des procédés de séchage et de conservation sur les caractéristiques colorimétriques moyennes des saucissons après 24h d'exposition à l'air (série d'essais n°3)*

**Au niveau sensoriel**, à l'instar des mesures de colorimétrie, la formulation « Témoin négatif » est évaluée comme grise ou marron (figure 20), quel que soit le processus de séchage appliqué. Pour la formulation « Essai », seule la modalité de séchage C confère ce type de couleur désagréable. La formulation Essai confère donc une couleur plus satisfaisante aux saucissons secs.



*Figure 20 : évaluation visuelle par dégustateurs internes de la couleur des saucissons de la série n°3 immédiatement après tranchage*

D'un point de vue global, il n'y a pas de différences significatives entre les différentes formulations et procédés de séchage sur les descripteurs « saveur salée », « goût positif de saucisson », « texture liée » et « appréciation globale ». Seule la texture des produits séchés à -41% de pertes sans conservation (conditions A et F) est jugée comme plus molle (tableau 13).

Même si l'appréciation globale n'est pas statistiquement différente ( $p=0,13$ ), le témoin positif avec -50% de pertes sans conservation (process B) est le plus apprécié. A l'inverse, les témoins négatifs sont souvent mal classés. Enfin, 4 conditions ont une appréciation globale intermédiaire entre les deux témoins positifs (A et B) caractérisés par un trait rouge sur la figure 21. 3 sont des formulations « Essai ». 2 ont été séchées à +16°C (F et G) et 2 ont subi un séchage complémentaire à 20°C jusqu'à -50% en 69 jours (D et G).

L'augmentation de la température de séchage à +16°C ou une durée de séchage rallongée de 28 jours à 69 jours à 20°C sont favorables à un bon développement organoleptique des saucissons élaborés avec la formulation « Essai ».

| Modalité        | Saveur salée | Goût saucisson | Texture sèche | Texture liée | Note globale |
|-----------------|--------------|----------------|---------------|--------------|--------------|
| T+-B            | 3,500 a      | 3,750 a        | 4,000 cd      | 3,250 a      | 7,625 a      |
| Essai-D         | 3,333 a      | 4,000 a        | 3,917 cd      | 2,667 a      | 7,333 a      |
| TN-C            | 3,583 a      | 3,500 a        | 3,500 cd      | 2,833 a      | 7,167 a      |
| Essai-G         | 3,000 a      | 3,444 a        | 3,222 bcd     | 3,222 a      | 7,111 a      |
| Essai-F         | 3,222 a      | 3,333 a        | 2,111 ab      | 3,222 a      | 6,667 a      |
| T+-A            | 2,842 a      | 3,211 a        | 2,105 a       | 3,579 a      | 6,553 a      |
| TN-D            | 3,167 a      | 3,250 a        | 3,583 cd      | 3,167 a      | 6,417 a      |
| Essai-B         | 3,000 a      | 3,500 a        | 4,500 d       | 3,500 a      | 6,250 a      |
| Essai-A         | 3,500 a      | 3,000 a        | 2,500 abc     | 3,500 a      | 6,000 a      |
| TN-G            | 2,833 a      | 3,000 a        | 3,222 bcd     | 3,444 a      | 6,000 a      |
| Essai-C         | 3,167 a      | 2,667 a        | 3,667 cd      | 3,167 a      | 5,750 a      |
| TN-F            | 2,556 a      | 2,556 a        | 1,833 a       | 3,444 a      | 5,556 a      |
| TN-A            | 2,763 a      | 2,737 a        | 1,763 a       | 3,132 a      | 5,158 a      |
| TN-B            | 3,000 a      | 3,000 a        | 4,000 cd      | 3,500 a      | 4,250 a      |
| p-value         | 0,554        | 0,185          | <0,0001       | 0,542        | 0,134        |
| Significativité | Non          | Non            | xxx           | Non          | Non          |

Tableau 12 : effet des formulations et des procédés de séchage / conservation sur les caractéristiques sensorielles moyennes des saucissons (série d'essais n°3)

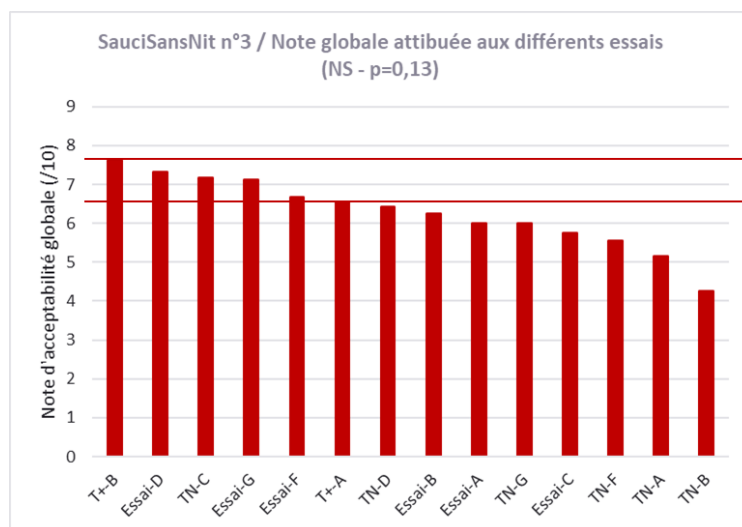


Figure 21 : appréciation globale par dégustateurs internes des saucissons de la série n°3 immédiatement après tranchage

**En conclusion**, malgré une acidification supérieure, la formulation alternative « Essai » combinant l'apport d'acide ascorbique et d'extrait de levure apporte une plus-value au niveau du goût et de la couleur des saucissons par rapport à une formulation sans conservateurs (témoin négatif). La note d'appréciation globale moyenne est supérieure à 7,0 /10 pour certaines conditions (D et G). Au niveau de la couleur, un séchage lent en 69 à 90 jours de

produits élaborés avec extrait de levures (modalités C, D et G) contribue à améliorer la couleur des produits de même qu'un séchage à +16°C plutôt qu'à +13°C (modalité F) et semble donc être un facteur d'optimisation.

Au niveau organoleptique, la formulation «Essai» se positionne de manière intermédiaire entre le témoin négatif et le témoin positif. **L'augmentation de la durée de séchage de 28 jours à 69 jours à 20°C (modalités D et G) est favorable à un bon développement organoleptique des saucissons élaborés avec cette formulation. Si le rallongement de la durée de séchage est difficile à mettre en œuvre au stade industriel, l'augmentation de la température de séchage à +16°C (modalité F) constitue une bonne alternative.**

Compte tenu des résultats expérimentaux acquis au travers des 3 séries d'essais réalisées sur la plate-forme technologique de l'ADIV, il a été décidé de tester la formulations « essai » avec extrait de levures et acide ascorbique dans deux PME de la Région Auvergne Rhône-Alpes, dénommées A et B. Compte tenu de la difficulté à transférer complètement les processus mis en œuvre du stade pilote vers l'échelle industrielle, en particulier, le séchage complémentaire pour des raisons économiques et le séchage à +16°C pour des raisons de disponibilité de locaux, seul l'étuvage à +16°C indispensable au maintien de la sécurité sanitaire des produits a été appliqué.

### 3. Mise en œuvre des essais dans des entreprises de fabricantes de saucisson secs

#### 3.1. Tests effectués dans l'entreprise A

##### 31.1 Matériels et méthodes

2 fabrications ont été testées en format chaudin et saucisses :

- un témoin positif correspondant à la fabrication habituelle de l'entreprise étuvé normalement,
- un essai élaboré sans conservateurs et sans acide ascorbique, étuvé à +16°C avec le ferment de l'entreprise, un ferment bioconservateur et l'extrait de levure S2.

Elles sont synthétisées dans le tableau 13.

|                                               | Témoin positif | Essai     |
|-----------------------------------------------|----------------|-----------|
| Quantités mise en œuvre (même lot de viandes) | 100 kg         | 75 kg     |
| Mix entreprise avec KNO3                      | 33 g/kg        | NON       |
| Mix entreprise SANS KNO3                      | NON            | 32,9 g/kg |
| Acide ascorbique                              | NON            | NON       |
| Extrait de levure                             | NON            | 0,5%      |
| Ferment bioconservateur                       | NON            | OUI       |
| Température étuvage                           | 24°C           | 16°C      |

Tableau 13 : formulations synthétiques mise en œuvre dans l'entreprise A

Le plan d'analyses réalisé sur les saucisses et saucissons essai est donné dans le tableau 14.

| Échéance          | Analyse microbiologique                                                                                                                                                                                   | Analyse physicochimique                                                                                                                                                                                             |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Jour d'emboissage | <ul style="list-style-type: none"> <li>ASR/Entérobactéries/levures/flore lactique (n=1/recette)</li> </ul>                                                                                                | <ul style="list-style-type: none"> <li>pH</li> </ul>                                                                                                                                                                |
| Fin d'étuvage     | <ul style="list-style-type: none"> <li>ASR/Entérobactéries/levures/flore lactique / Recherche salmonelles / Dénombrement <i>listeria</i> (n=2/recette)</li> </ul>                                         | <ul style="list-style-type: none"> <li>pH tous les jours jusqu'à la fin de l'étuvage</li> <li>pH ADIV à J6</li> </ul>                                                                                               |
| Fin de séchage    | <ul style="list-style-type: none"> <li>ASR /Entérobactéries /levures/flore lactique / Pseudo</li> <li>(n=2/recette)</li> <li>Recherche salmonelles /Dénombrement <i>listeria</i> (n=5/recette)</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Pigments totaux + pigments héminiques nitrosylés (n=3/ recette)</li> <li>Dégustation ADIV (n=1)</li> <li>pH, Lab, photos au tranchage et 16 h après (n=2/recette)</li> </ul> |

Tableau 14 : formulations synthétiques mise en œuvre dans l'entreprise A

### 31.2 Résultats

L'analyse des mesures de pH des saucisses et saucissons Essai montre des valeurs conformes mais globalement inférieures à des valeurs usuelles (figure 22).

Les durées de séchage pratiquées ont été plus longues que les durées usuelles :

- 20 jours versus 14 à 18 jours habituellement pour les saucisses,
- 41 jours versus 35 jours usuellement pour les saucissons.

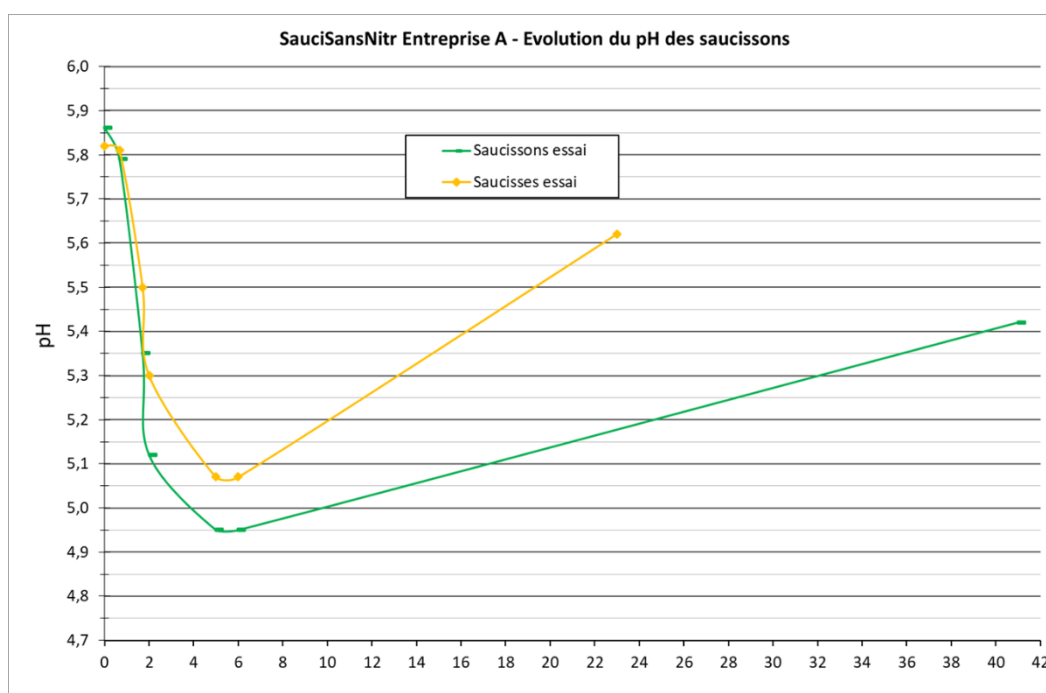


Figure 22 : évolution des pH des saucisses et saucissons élaborés dans l'entreprise A

L'aspect des saucisses et saucissons « essai » au tranchage est rouge et attrayant, sans différence avec le témoin positif. Après 72h d'exposition à l'air, leur couleur s'oxyde de manière plus marquée que le témoin pour les deux calibres (figure 23).

#### Au tranchage



#### 72h après exposition à l'air

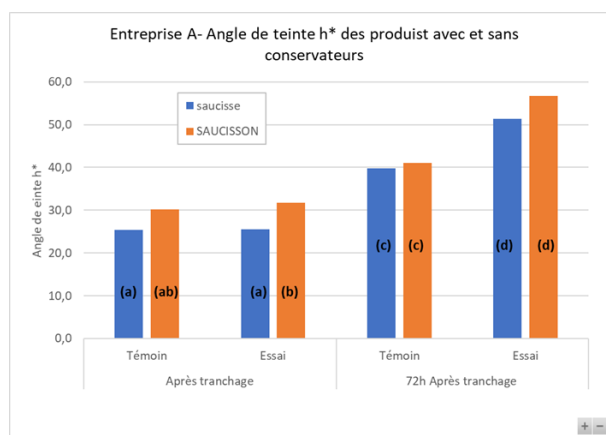
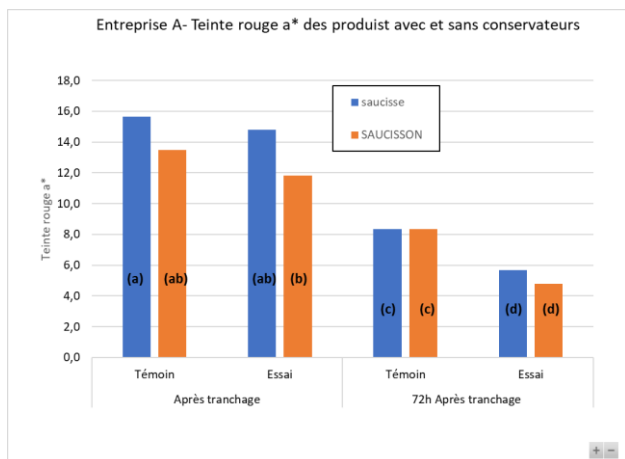


*Figure 23 : aspect des saucisses et saucissons élaborés dans l'entreprise A*

Comme l'ont montré les photographies, la teinte rouge  $a^*$  et l'angle de teinte  $h^*$  des saucisses ou des saucissons « essai » au moment du tranchage, sont comparables à ceux des témoins (figures 24a et 24b). Après 3 jours d'exposition à l'air, la teinte rouge  $a^*$  des essais chute significativement plus bas que celle des témoins. L'angle de teinte  $h^*$  augmente aussi de manière significativement plus importante en absence de conservateurs (tableaux 15a, 15b et 15c). L'extrait de levure n'a pas permis de préserver la couleur.

La dégradation de la couleur est d'ailleurs plus marquée pour les saucissons que les saucisses ( $p=0,02$  pour la teinte rouge  $a^*$  et  $p=0,001$  pour l'angle de teinte  $h^*$ ).





**Figure 24 : caractéristiques colorimétriques des saucisses et saucissons élaborés dans l'entreprise A : teinte rouge a\* (figure 24a à gauche) et angle de teinte h\* (figure 24b à droite)**  
Deux lettres différentes symbolisent une différence significative avec un risque d'erreur inférieur à 5%

| Effet formulation | a*     | h*      |
|-------------------|--------|---------|
| Essai             | 9,3 a  | 41,3 a  |
| Témoin            | 11,5 b | 4,1 b   |
| P-value           | 0,002  | <0,0001 |
| Significativité   | **     | ***     |

| Effet calibre de produit | a*     | h*     |
|--------------------------|--------|--------|
| SAUCISSON                | 9,6 a  | 40,0 a |
| Saucisse                 | 11,1 b | 35,5 b |
| p-value                  | 0,021  | 0,001  |
| Significativité          | *      | **     |

| Effet délai de mesure          | a*      | h*      |
|--------------------------------|---------|---------|
| Après tranchage                | 14,0 a  | 28,2 a  |
| Après 72h d'exposition à l'air | 6,8 a   | 47,2 a  |
| p-value                        | <0,0001 | <0,0001 |
| Significativité                | ***     | ***     |

**Tableaux 15a, b et c : impact de la formulation (15a : en haut à gauche), du calibre (15b en haut à droite) et du délai de mesure (15c en bas) sur les caractéristiques colorimétriques des saucissons et saucisses élaborés dans l'entreprise A**  
Deux lettres différentes symbolisent une différence significative avec un risque d'erreur inférieur à 5%

Les analyses microbiologiques effectuées sur les produits en cours et en fin de procédé de fabrication montrent que les saucisses et saucissons « essai » sont conformes aux critères réglementaires malgré l'absence de conservateurs (tableau 16). Aucune flore d'altération ne s'est non plus développée.

| Échéance               | Date       | Description   | Dénombrement flore totale (log ufc/g) | Dénombrement flore lactique (log ufc/g) | Dénombrement entérobactéries (log ufc/g) | Dénombrement levures (log ufc/g) | Dénombrement ASR (log ufc/g) | Recherche Salmonella /25 g | Dénombrement Listeria (ufc/g) |
|------------------------|------------|---------------|---------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------|------------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| Fabrication des mêlées | 14/11/2023 | Viande Nature | 3,56                                  | 1,60                                    | 1,48                                     | 1,48                             | <1                           |                            |                               |
|                        |            | Mêlée         | 7,32                                  | 6,96                                    | <1                                       | 1,60                             | <1                           |                            |                               |
|                        |            |               | 7,18                                  | 6,95                                    | <1                                       | 1,60                             | <1                           |                            |                               |
| Fin d'étuvage          | 17/11/2023 | Saucisses     | 8,98                                  | 8,91                                    | 3,73                                     | 2,60                             | <1                           |                            |                               |
|                        |            | SAUCISSONS    | 8,85                                  | 8,79                                    | 2,95                                     | 2,20                             | <1                           |                            |                               |
|                        |            |               | 8,73                                  | 8,72                                    | 3,41                                     | 2,36                             | <1                           |                            |                               |
| Fin de séchage         | 11/12/2023 | Saucisses     | 8,93                                  | 8,91                                    | 3,56                                     | 2,46                             | <1                           |                            |                               |
|                        |            |               | 8,57                                  | 8,51                                    | <1                                       | 2,78                             | <1                           | Non détecté                | Non détecté                   |
|                        |            |               | 8,45                                  | 8,41                                    | 1,00                                     | 2,00                             | <1                           | Non détecté                | Non détecté                   |
|                        |            |               |                                       |                                         |                                          |                                  |                              | Non détecté                | Non détecté                   |
|                        |            |               |                                       |                                         |                                          |                                  |                              | Non détecté                | Non détecté                   |
|                        |            |               |                                       |                                         |                                          |                                  |                              | Non détecté                | Présence <10                  |
|                        | 26/12/2023 | SAUCISSONS    | 9,23                                  | > 10,48                                 | <1                                       | > 6,18                           | <1                           | Non détecté                | Non détecté                   |
|                        |            |               | 9,23                                  | > 10,49                                 | <1                                       | > 6,19                           | <1                           | Non détecté                | Non détecté                   |
|                        |            |               |                                       |                                         |                                          |                                  |                              | Non détecté                | Non détecté                   |
|                        |            |               |                                       |                                         |                                          |                                  |                              | Non détecté                | Présence <10 <sup>(1)</sup>   |

<sup>(1)</sup> : aw des saucissons mesurée à 0,875

Tableau 16 : microbiologie des saucissons et saucisses élaborés dans l'entreprise A

Le dosage des pigments totaux et nitrosylés n'a été effectué que sur les saucissons. La teneur en pigments nitrosylés de la formulation « Essai » élaborée par l'entreprise A est proche de celle mesurée pour des témoins positifs avec conservateurs (tableau 17). L'indicateur « teneur en pigments nitrosylés » semble perturbé par la présence de l'extrait de levure de la formulation « Essai » sans qu'elle ne contienne pourtant de dérivés nitrés. C'est un point de vigilance dont il faudrait essayer de comprendre l'origine car ces saucissons élaborés sans salpêtre ni nitrite de sodium pourraient être confondus avec des produits en contenant sur la base de ce seul dosage des pigments nitrosylés.

| SAUCISSONS                                                                                            | Pigments héminiques nitrosylés (ppm) | Pigments héminiques totaux (ppm) | Taux de nitrosylation (%) |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| Témoin positif avec KNO3 Entreprise A                                                                 | 50                                   | 102                              | 50%                       |
| Témoin positif ADIV avec KNO3 (base de données ADIV)                                                  | 42                                   | 99                               | 42%                       |
| Témoin négatif ADIV sans conservateurs, avec acide ascorbique et sans extraits (Base de données ADIV) | 21                                   | 86                               | 24%                       |
| Essai Entreprise A sans acide ascorbique                                                              | 40                                   | 90                               | 44%                       |

Tableau 17 : teneur en pigments totaux et nitrosylés des saucissons élaborés dans l'entreprise A

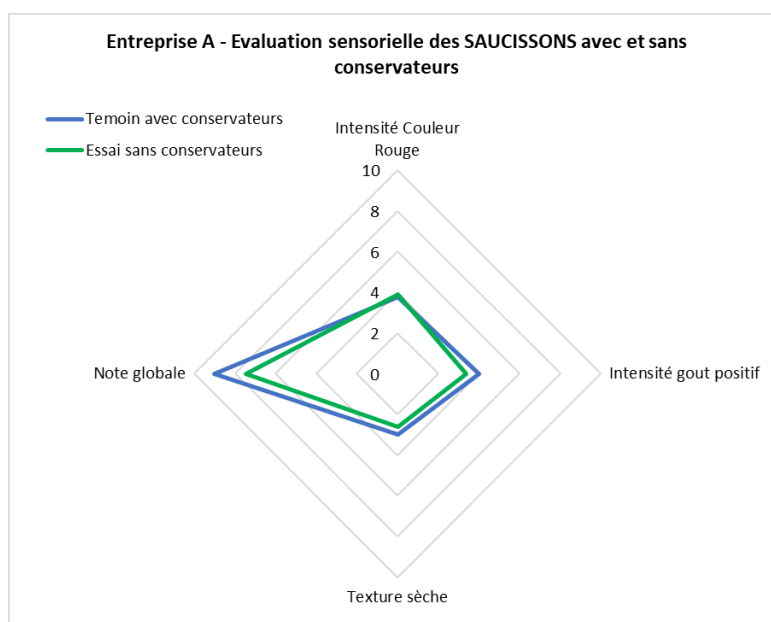
L'évaluation sensorielle des saucissons élaborés par l'entreprise A a été effectuée par un panel de 4 dégustateurs ADIV. Aucune différence significative entre les deux types de produit n'a été perçue sur les 4 indicateurs évalués (tableau 18 et figure 25). Seule l'appréciation

globale tend à être différente ( $p=0,06$ ) **à la faveur des produits témoin** malgré l'apport de la solution technologique de substitution sur les essais. Leur appréciation globale reste malgré tout correcte puisqu'elle vaut 7,4 sur 10 en moyenne.

| Effet formulation | Couleur Rouge    | Intensité gout positif | Texture sèche    | Note globale |
|-------------------|------------------|------------------------|------------------|--------------|
| Témoin            | 3,75 a           | 4,0 a                  | 3,00 a           | 9,0 a        |
| Essai             | 3,88 a           | 3,38 a                 | 2,63 a           | 7,44 a       |
| p-value           | 0,791            | 0,213                  | 0,348            | 0,062        |
| Significativité   | Non Significatif | Non Significatif       | Non Significatif | Tendance     |

**Tableau 18 : caractéristiques sensorielles moyennes des saucissons élaborés dans l'entreprise A**

Deux lettres différentes symbolisent une différence significative avec un risque d'erreur inférieur à 5%



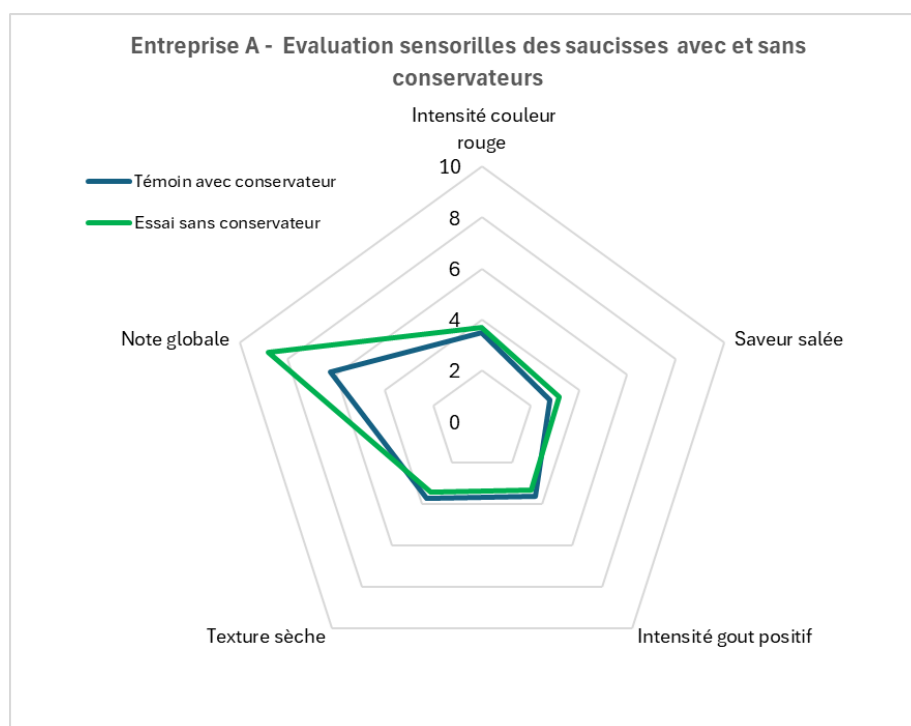
**Figure 25 : caractéristiques sensorielles moyennes des saucissons élaborés dans l'entreprise A**

L'évaluation sensorielle des saucisses quant à elle, a été effectuée par un panel de 5 dégustateurs ADIV. Aucune différence significative entre les deux types de produit n'a été perçue sur les indicateurs « saveur salée », « texture sèche », « intensité du goût positif » et « intensité de la couleur rouge » (tableau 19 et figure 26). En revanche, à l'inverse de l'évaluation faite sur les saucissons, les saucisses sèches « essai » sont significativement plus appréciées que les saucisses sèches « témoin » ( $p=0,001$ ). Leur appréciation globale est excellente puisqu'elle vaut 8,8 sur 10 en moyenne.

| Effet formulation | Intensité couleur rouge | Saveur salée     | Intensité gout positif | Texture sèche    | Note globale   |
|-------------------|-------------------------|------------------|------------------------|------------------|----------------|
| Essai             | 3,700 a                 | 3,200 a          | 3,300 a                | 3,400 a          | <b>8,813 b</b> |
| Témoin            | 3,500 a                 | 2,800 a          | 3,600 a                | 3,700 a          | <b>6,250 a</b> |
| p-value           | 0,570                   | 0,113            | 0,622                  | 0,442            | <b>0,001</b>   |
| Significativité   | Non significatif        | Non significatif | Non significatif       | Non significatif | <b>**</b>      |

**Tableau 19 : caractéristiques sensorielles moyennes des saucisses élaborées dans l'entreprise A**

Deux lettres différentes symbolisent une différence significative avec un risque d'erreur inférieur à 5%



**Figure 26 : caractéristiques sensorielles moyennes des saucisses élaborées dans l'entreprise A**

### **31.3 Conclusion des essais**

En conclusion, même si les pH des saucisses et saucissons « essai » élaborés avec extrait de levure et sans conservateurs sont globalement inférieurs à des valeurs usuelles, leur saveur n'est pas ou peu impactée. Les saucisses sèches « essai » sont significativement plus appréciées que les saucisses sèches « témoin » avec conservateurs avec une appréciation globale excellente de 8,8 /10 en moyenne. Celle des saucissons Essai est inférieure à celle des témoins mais reste correcte puisqu'elle vaut 7,4 /10 en moyenne. Au niveau de la couleur, les caractéristiques colorimétriques des saucisses ou des saucissons « essai » sont

comparables à celles des témoins au moment du tranchage. Après 3 jours d'exposition à l'air, la couleur des essais élaborés sans conservateurs s'oxyde de manière plus forte que celle des témoins élaborés avec, sans plus-value de l'extrait de levure. Il ne s'agit pas forcément d'un problème pour des pièces non destinées à être vendues à l'état tranché. Au niveau microbiologique, aucune dérive n'a été observée sur les produits sans conservateurs grâce au procédé d'étuvage à 16°C qui a malgré tout, l'inconvénient de rallonger le processus global d'étuvage / séchage de 6 jours.

Enfin, les tests ont montré que le dosage des pigments nitrosylés devait être interprété avec prudence car la présence d'extrait de levure tend à faire augmenter artificiellement cet indicateur au risque de confondre le produit sans conservateur avec un homologue en contenant.

**En conclusion, les résultats sont globalement positifs notamment pour la saucisse mais des améliorations doivent encore être portées aux saucissons pour retrouver un niveau d'acceptabilité comparable à une formulation avec conservateurs.**

**Pour ce faire, les essais conduits dans l'entreprise B se sont centrés que sur les saucissons secs et de l'apport d'acide ascorbique a été expérimenté pour optimiser le statut antioxydant des mêlées.**

### 3.2. Tests effectués dans l'entreprise B

#### 32.1 Matériels et méthodes

3 fabrications ont été testées en format chaudin uniquement :

- un témoin positif correspondant à la fabrication habituelle de l'entreprise étuvé normalement,
- un essai élaboré sans conservateurs, étuvé à +16°C avec le ferment de l'entreprise et un ferment bioconservateur, 2g/kg d'acide ascorbique et l'extrait de levure S2,
- un témoin négatif sans conservateurs étuvé à +16°C avec le ferment de l'entreprise et un ferment bioconservateur sans acide ascorbique.

Elles sont synthétisées dans le tableau 20.

|                                               | Témoin positif | Témoin négatif | Essai   |
|-----------------------------------------------|----------------|----------------|---------|
| Quantités mise en œuvre (même lot de viandes) | 100 kg         | 75 kg          | 75 kg   |
| Mix entreprise avec KNO3                      | 20 g/kg        | NON            | NON     |
| Mix entreprise SANS KNO3                      | NON            | 20 g/kg        | 20 g/kg |
| Acide ascorbique                              | NON            | NON            | 2 g/kg  |
| Extrait de levure                             | NON            | NON            | 5 g/kg  |
| Ferment bioconservateur                       | NON            | OUI            | OUI     |
| Température étuvage                           | 24°C           | 16°C           | 16°C    |

*Tableau 20 : formulations synthétiques mise en œuvre dans l'entreprise B*

L'étuvage à 16°C a duré 4 jours contre 3 jours en temps normal pour le témoin positif.

Le plan d'analyses réalisé sur les saucisses et saucissons alternatifs est donné dans le tableau 21.

| Échéance                        | Analyse microbiologique                                                                                                                                                                          | Analyse physicochimique                                                                                                                                                                                                                                    |
|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Jour d'embossage                | <ul style="list-style-type: none"> <li>ASR/Entérobactéries/levures/flore lactique (n=1/recette)</li> </ul>                                                                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>pH</li> </ul>                                                                                                                                                                                                       |
| Fin d'étuvage                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>ASR/Entérobactéries/levures/flore lactique / Recherche salmonelles / Dénombrement <i>listeria</i> (n=2/recette)</li> </ul>                                | <ul style="list-style-type: none"> <li>pH tous les jours jusqu'à la fin de l'étuvage</li> <li>pH ADIV à J6</li> </ul>                                                                                                                                      |
| Fin de séchage                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>ASR /Entérobactéries /levures/flore lactique / Pseudo (n=2/recette)</li> <li>Recherche salmonelles /Dénombrement <i>listeria</i> (n=5/recette)</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>HPD (n=1/recette)</li> <li>Pigments totaux + pigments héminiques nitrosylés + ZnPP (n=3/ recette)</li> <li>Dégustation ADIV (n=1)</li> <li>pH, aw, Lab + photos au tranchage et 16 h après (n=2/recette)</li> </ul> |
| Fin de séchage + 2 mois à +20°C | /                                                                                                                                                                                                | <ul style="list-style-type: none"> <li>TBARs (n=1 / recette)</li> <li>Dégustation ADIV</li> </ul>                                                                                                                                                          |

Tableau 21 : plan d'analyses mis en œuvre sur les produits élaborés dans l'entreprise B

## 32.2 Résultats

L'analyse des mesures de pH des saucissons montre des valeurs basses, globalement inférieures à des valeurs usuelles (figure 27) pour la formulation « Essai ».

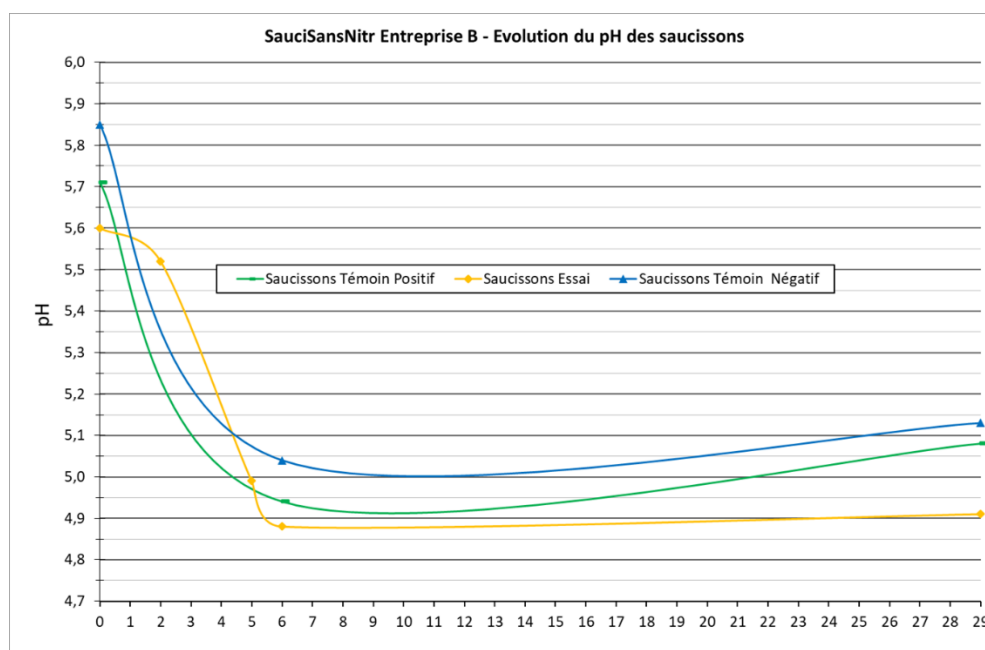


Figure 27 : évolution des pH des s saucissons élaborés dans l'entreprise B

Les durées de séchage pratiquées sont conformes aux durées usuelles. Elles sont de 29 jours (figure 28).

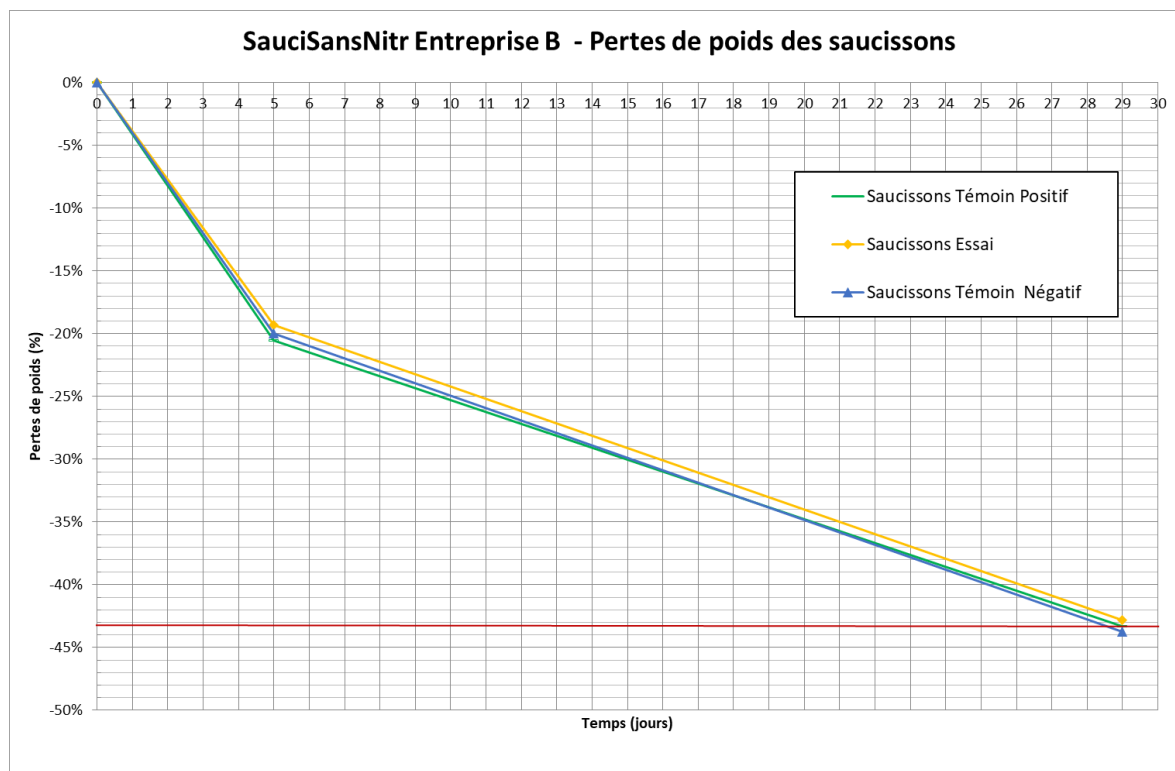


Figure 28 : évolution des pertes de poids des saucissons élaborés dans l'entreprise B

L'HPD des saucissons témoins est proche de 53% (tableau 22) soit 1% de plus que l'essai sachant que la valeur maximale de commercialisation de saucisson secs supérieurs est définie à 52% dans le code des usages de la charcuterie. Du coup, celle des essais est conforme.

Les taux de matière grasse mis en œuvre lors des fabrications (indicateur lipides/HPD77) est légèrement différente entre les 3 modalités expérimentales mais vaut en moyenne 16%.

| Dénomination   | Répétitions | pH   | aw    | Humidité % | Lipides libres % | HPD % | Lipides / HPD77 % |
|----------------|-------------|------|-------|------------|------------------|-------|-------------------|
| Témoin positif | R1          | 5,08 | 0,880 | 37,0       | 30,1             | 52,9  | 17,4              |
| Témoin positif | R2          | 5,07 | 0,877 |            |                  |       |                   |
| Témoin négatif | R1          | 5,16 | 0,874 | 38,8       | 27,4             | 53,4  | 15,7              |
| Témoin négatif | R2          | 5,10 | 0,886 |            |                  |       |                   |
| Essai          | R1          | 4,92 | 0,872 | 38,7       | 25,7             | 52,1  | 14,2              |
| Essai          | R2          | 4,89 | 0,871 |            |                  |       |                   |

Tableau 22 : analyses chimiques des produits élaborés dans l'entreprise B



La microbiologie saucissons témoin et essai est conforme malgré l'absence de conservateurs. Aucune différence n'est observée sur les différentes flores analysées (tableau 23) qu'il s'agisse de flore pathogène ou de flore d'altération.

| Échéance | Description    | Répétitions | Dénombrement Flore totale (ufc/g) | Dénombrement Flore lactique (ufc/g) | Dénombrement ASR (ufc/g) | Dénombrement ENTERO (ufc/g) | Dénombrement levures (ufc/g) | Dénombrement <i>Listeria mono.</i> (ufc/g) | Recherche salmonelles (/25g) |
|----------|----------------|-------------|-----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------|
| Mélée    | Témoin positif | R1          | 7,80E+06                          | 2,80E+06                            | <10                      | 50                          | 1,50E+02                     | Non Détecté / 25 g                         | Non Détecté / 25 g           |
| Mélée    | Témoin négatif | R2          | 1,09E+07                          | 1,02E+07                            | <10                      | 30                          | 1,50E+03                     | Non Détecté / 25 g                         | Non Détecté / 25 g           |
| Mélée    | Essai          | R3          | 9,40E+06                          | 8,90E+06                            | 10                       | 40                          | 8,00E+02                     | Non Détecté / 25 g                         | Non Détecté / 25 g           |
| Etuvage  | Témoin positif | R1          |                                   | > 300 000 000                       | <10                      | <10                         | > 150 000                    | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| Etuvage  | Témoin positif | R2          |                                   | > 300 000 000                       | <10                      | 190                         | > 150 000                    | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| Etuvage  | Témoin négatif | R1          |                                   | > 300 000 000                       | <10                      | 20                          | 32 000                       | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| Etuvage  | Témoin négatif | R2          |                                   | > 300 000 000                       | <10                      | 30                          | 110 000                      | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| Etuvage  | Essai          | R1          |                                   | > 300 000 000                       | <10                      | 50                          | > 150 000                    | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| Etuvage  | Essai          | R2          |                                   | > 300 000 000                       | <10                      | 70                          | > 150 000                    | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| JFS      | Témoin positif | R1          |                                   | 370 000 000                         | <10                      | 10                          | < 1 000                      | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| JFS      | Témoin positif | R2          |                                   | 470 000 000                         | <10                      | <10                         | < 1 000                      | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| JFS      | Rpétitions     | R3          |                                   |                                     |                          |                             |                              | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| JFS      | Témoin positif | R4          |                                   |                                     |                          |                             |                              | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| JFS      | Témoin positif | R5          |                                   |                                     |                          |                             |                              | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| JFS      | Témoin négatif | R1          |                                   | 1 180 000 000                       | <10                      | <10                         | < 1 000                      | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| JFS      | Témoin négatif | R2          |                                   | 1 000 000 000                       | <10                      | <10                         | < 1 000                      | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| JFS      | Témoin négatif | R3          |                                   |                                     |                          |                             |                              | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| JFS      | Témoin négatif | R4          |                                   |                                     |                          |                             |                              | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| JFS      | Témoin négatif | R5          |                                   |                                     |                          |                             |                              | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| JFS      | Essai          | R1          |                                   | 700 000 000                         | <10                      | <10                         | < 1 000                      | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| JFS      | Essai          | R2          |                                   | 1 760 000 000                       | <10                      | <10                         | < 1 000                      | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| JFS      | Essai          | R3          |                                   |                                     |                          |                             |                              | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| JFS      | Essai          | R4          |                                   |                                     |                          |                             |                              | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |
| JFS      | Essai          | R5          |                                   |                                     |                          |                             |                              | <10                                        | Non Détecté / 25 g           |

Tableau 23 : analyses microbiologiques des produits élaborés dans l'entreprise B

La teneur en pigments nitrosylés de la formulation « Essai » élaborée par l'entreprise B est du même ordre de grandeur que celle du témoin négatif fabriqué dans le même temps avec une valeur comprise entre 31 et 35 ppm (tableau 24). Ces deux valeurs sont différentes de celles mesurées d'une part pour le saucisson essai dans l'entreprise A (40 ppm) et le témoin négatif issu de la base de données ADIV (21 ppm). Le rapport « teneur en pigments nitrosylés / pigments totaux », autrement dit le taux de nitrosylation s'en trouve également perturbé. Il se positionne aussi de manière intermédiaire entre les mesures faites sur les produits de l'entreprise A et celles issues de la base de données ADIV. La technique de mesure de la teneur en pigments nitrosylés et le calcul du taux de nitrosylation en découlant semblent donc avoir une grande variabilité. Ils doivent donc être interprétés avec prudence. Il faut toutefois signaler qu'ils n'atteignent jamais les valeurs enregistrées pour les témoins positifs : 42 ppm minimum de pigments nitrosylés et 43% minimum de nitrosylation.

La teneur en ZnPP, pigment rouge présent dans les salaisons à longue durée de fabrication, n'est pas neutre dans les produits élaborés sans conservateur témoin ou essai. Elle vaut 6.2 à 7 ppm environ alors que le témoin avec conservateur n'en contient pas. Cette production de ZnPP semble donc en mesure de faire croire « artificiellement » la quantité de pigments nitrosylés des saucissons sans conservateurs car leur dosage fait appel à une méthode non spécifique d'extraction des pigments.

|                                                                                             | Pigments héminiques nitrosylés<br>(exprimé en hématine) |     |         | Pigments héminiques totaux<br>(exprimé en hématine) |     |         | Nitrosylation |         | ZnPP<br>(µg/g) |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|-----|---------|-----------------------------------------------------|-----|---------|---------------|---------|----------------|
|                                                                                             | Concentration                                           |     | Moyenne | Concentration                                       |     | Moyenne | Valeur        | Moyenne |                |
|                                                                                             | µM                                                      | ppm |         | µM                                                  | ppm |         | %             | %       |                |
| Saucisson Témoin positif                                                                    | 94                                                      | 59  | 59      | 174                                                 | 110 | 112     | 54%           | 52%     | 0,3            |
|                                                                                             | 98                                                      | 62  |         | 187                                                 | 118 |         | 52%           |         |                |
|                                                                                             | 88                                                      | 55  |         | 172                                                 | 109 |         | 51%           |         |                |
| Saucisson Témoin négatif sans acide ascorbique                                              | 48                                                      | 31  | 31      | 136                                                 | 86  | 89      | 35%           | 35%     | 7,0            |
|                                                                                             | 45                                                      | 29  |         | 140                                                 | 89  |         | 32%           |         |                |
|                                                                                             | 56                                                      | 35  |         | 147                                                 | 93  |         | 38%           |         |                |
| Saucisson Essai avec extrait et acide ascorbique                                            | 48                                                      | 30  | 35      | 142                                                 | 90  | 91      | 34%           | 38%     | 6,2            |
|                                                                                             | 60                                                      | 38  |         | 139                                                 | 88  |         | 43%           |         |                |
|                                                                                             | 57                                                      | 36  |         | 151                                                 | 95  |         | 38%           |         |                |
| Saucisson Témoin positif / Entreprise A                                                     |                                                         |     | 50      |                                                     |     | 102     |               | 50%     |                |
| Saucisson Essai sans ac. ascorbique / Entreprise A                                          |                                                         |     | 40      |                                                     |     | 90      |               | 44%     |                |
| Saucisson sec sans conservateur, avec ac. ascorbique et sans extraits (témoin négatif ADIV) |                                                         |     | 21      |                                                     |     | 86      |               | 24%     |                |
| Saucisson sec avec salpêtre (témoin positif ADIV)                                           |                                                         |     | 42      |                                                     |     | 99      |               | 43%     |                |

*Tableau 24 : teneur en pigments totaux et nitrosylés des saucissons élaborés dans l'entreprise B*

Au tranchage, la couleur du témoin négatif et de l'essai est attractive et peu différente de celle du témoin positif (figure 29).

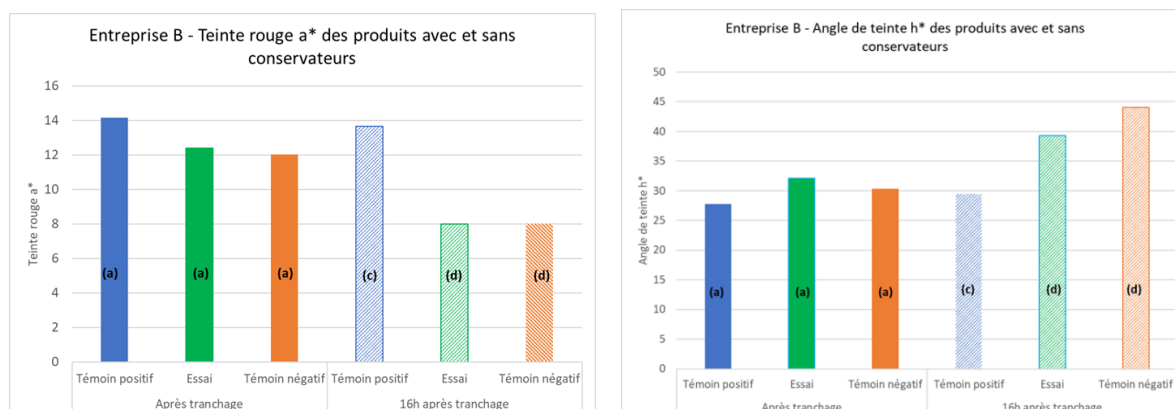
Après 16h d'exposition à l'air, la couleur de l'essai et du témoin négatif s'oxyde de manière plus marquée que le témoin sans différence ou sans plus-value de l'apport d'extrait de levure.

#### Au tranchage



*Figure 29 : aspect des saucissons élaborés dans l'entreprise B*

Comme observé sur les photographies, les caractéristiques colorimétriques des témoins et de l'essai sont comparables dès le tranchage (figure 30). En revanche, après 16h d'exposition à l'air, la couleur de l'essai comme du témoin négatif s'altère de manière significative par rapport au témoin positif sans plus-value de l'extrait de levure.



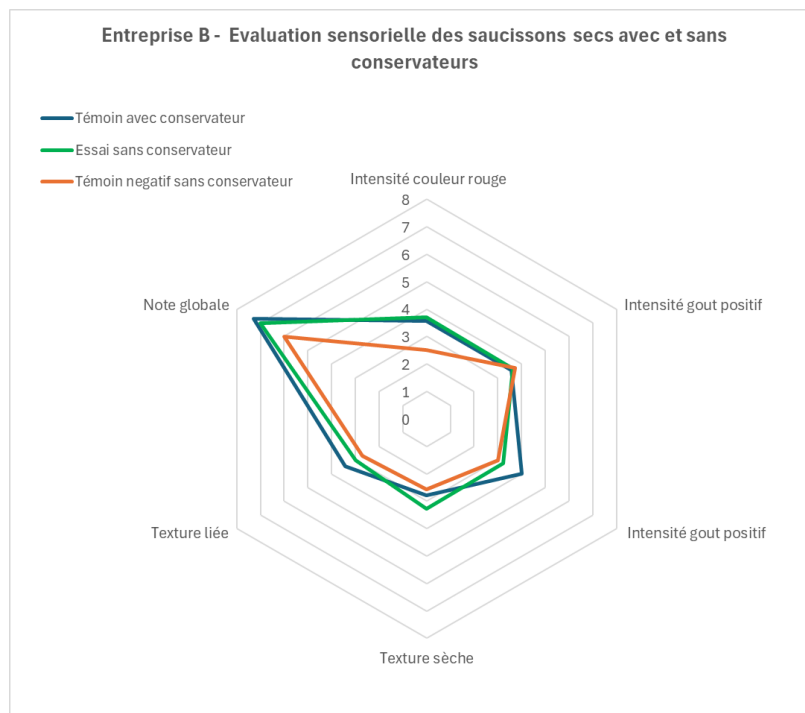
**Figure 30 : caractéristiques colorimétriques des saucissons élaborés dans l'entreprise B**  
Deux lettres différentes symbolisent une différence significative avec un risque d'erreur inférieur à 5%

L'évaluation sensorielle des saucissons, a été effectuée par un panel de 7 dégustateurs ADIV. Aucune différence significative entre les 3 types de produit n'a été perçue sur les indicateurs « saveur salée », « texture liée », « texture sèche », « intensité du goût positif » et « intensité du goût inhabituel » (tableau 25 et figure 31). En revanche, l'intensité de la couleur rouge de l'essai au moment du tranchage a tendance à être perçue comme plus rouge que celle du témoin négatif sans être différente de celle du témoin positif ( $p=0,09$ ).

L'appréciation globale n'est pas statistiquement différente entre les 3 modalités. La note globale de l'essai est correcte sans être excellente puisqu'elle vaut 7 / 10 en moyenne, sachant que la note du témoin positif vaut 7,7 / 10. **Pour 3 dégustateurs sur 7, l'essai a reçu la meilleure note alors que sur 4 ont préféré le témoin positif. L'apport de l'extrait de levure reste donc intéressant au niveau sensoriel comparativement au témoin négatif.**

| Modalité        | Intensité couleur rouge | Saveur salée | Intensité gout positif | Intensité gout habituel | Texture sèche | Texture liée | Note d'appréciation globale |
|-----------------|-------------------------|--------------|------------------------|-------------------------|---------------|--------------|-----------------------------|
| Essai           | 3,714 a                 | 3,643 a      | 3,214 a                | 2,286 a                 | 3,286 a       | 3,000 a      | 7,000 a                     |
| Témoin positif  | 3,571 ab                | 3,571 a      | 4,000 a                | 1,500 a                 | 2,786 a       | 3,429 a      | 7,286 a                     |
| Témoin négatif  | 2,500 b                 | 3,714 a      | 3,000 a                | 2,571 a                 | 2,571 a       | 2,714 a      | 6,000 a                     |
| p-value         | 0,086                   | 0,927        | 0,125                  | 0,167                   | 0,214         | 0,197        | 0,152                       |
| Significativité | Tend                    | NS           | NS                     | NS                      | NS            | NS           | NS                          |

**Tableau 25 : caractéristiques sensorielles des saucissons élaborés dans l'entreprise B**  
Deux lettres différentes symbolisent une différence significative avec un risque d'erreur inférieur à 5%



*Figure 31 : aspect des saucissons élaborés dans l'entreprise B*

### **32.3 Conclusion des essais**

En conclusion, comme pour l'entreprise A, le pH des saucissons « essai » élaborés avec extrait de levure et acide ascorbique mais sans conservateurs est globalement inférieur à des valeurs usuelles, comme d'ailleurs celui des témoins négatifs élaborés sans conservateurs mais avec apport d'acide ascorbique. L'acide ascorbique contribue donc à acidifier prématurément les mêlées.

Au tranchage, la couleur de l'essai est attractive et perçue comme plus rouge que le témoin négatif par un jury d'analyse sensorielle. Malheureusement, sa couleur s'altère de manière significative après 16h d'exposition à l'air, sans plus-value de l'apport d'extrait de levure.

La couleur soutenue des saucissons essai au moment du tranchage peut se justifier par la présence de ZnPP, pigment rouge présent dans les jambons secs à longue durée de fabrication. Sa présence contribue à faire croire « artificiellement » la quantité de pigments nitrosylés des saucissons sans conservateurs car leur dosage fait appel à une méthode non spécifique d'extraction des pigments. Ainsi, la teneur en pigments nitrosylés de la formulation « Essai » élaborée par l'entreprise B est élevée et elle peut être confondue avec un saucisson élaboré avec conservateurs. La valeur vaut 35 ppm alors que celle des témoins positifs vaut 42 ppm minimum.

Comme pour l'entreprise A, la microbiologie saucissons essai est conforme malgré l'absence de conservateurs. Aucune différence n'est observée sur les différentes flores analysées ce qui est très positif et démontre la plus-value de l'étuvage à +16°C pour les saucissons élaborés

sans conservateurs, malgré un temps d'étuvage de 4 jours au total, au lieu de 3 jours en temps normal.

L'appréciation globale n'est pas statistiquement différente entre les 3 modalités. La note globale de l'essai est correcte sans être excellente puisqu'elle vaut 7 /10 en moyenne, sachant que la note du témoin positif vaut 7,7 / 10. Pour 3 dégustateurs sur 7, l'essai a reçu la meilleure note alors que sur 4 ont préféré le témoin positif. L'apport de l'extrait de levure reste donc intéressant au niveau sensoriel comparativement au témoin négatif.

**L'apport d'acide ascorbique en complément de l'extrait de levure dans l'entreprise B n'a pas permis d'améliorer les scores qui avaient été enregistrés dans l'entreprise A. Il doit donc être exclu des formulations ou sa dose réduite. L'apport d'extrait de levure est une vraie piste de progrès pour améliorer le goût des saucissons sans conservateurs mais des optimisations restent donc à envisager pour commercialiser des saucissons secs sans conservateurs avec des qualités organoleptiques optimisées.**

**En revanche, l'étuvage à +16°C a donné satisfaction au niveau microbiologique mais sa mise en place nécessite de rallonger la durée de l'étuvage de 24h à 36h. Il nécessiterait donc pour les entreprises désireuses de l'adopter, des investissements pour augmenter les surfaces d'étuvage de leur outil de production.**

## 4. Conclusion générale

L'enjeu du projet conduit était de poursuivre les travaux de l'ADIV afin de développer des connaissances et des stratégies technologiques permettant de réduire voire supprimer l'emploi des conservateurs nitrés (salpêtre et/ou sel nitrité) dans les saucissons secs et plus globalement dans les charcuteries et ainsi réduire l'exposition des populations à ces additifs tout en préservant leur sécurité sanitaire et leur qualité organoleptique.

Deux verrous devaient être levés :

- identifier et tester de nouveaux antioxydants ou combinaisons d'antioxydants permettant d'obtenir un saucisson sans conservateurs aux caractéristiques sanitaires et organoleptiques acceptables,
- évaluer en conditions réelles l'impact de l'abaissement des températures d'étuvage.

Concernant le premier verrou, le projet a permis d'identifier une solution technologique antioxydante performante pour améliorer le goût des saucissons secs sans conservateurs : les extraits de levure. Ils ont permis d'obtenir des résultats sensoriels très satisfaisants sur la saucisse sèche (note d'acceptabilité de 8,8 sur 10) mais pas encore optimaux pour le saucisson sec (note d'acceptabilité de 7 sur 10), pour lequel des améliorations doivent encore être portées pour accéder à un niveau d'acceptabilité comparable à une formulation avec conservateurs. L'apport d'acide ascorbique, antioxydant dont l'emploi est très répandu en charcuterie a été testé en complément du pouvoir antioxydant de l'extrait de levure mais n'a pas permis, à la dose testée, d'améliorer les scores d'acceptabilité des saucissons secs.

Des stratégies de procédé ont été identifiées pour optimiser l'activité des extraits de levures telles l'augmentation de la durée de séchage de 28 jours à 69 jours à +20°C mais cette stratégie est difficile à mettre en œuvre au stade industrie. La baisse du rendement de séchage de 59% à 50% augmente le prix de revient de +18%. De plus, il nécessite d'augmenter les surfaces de séchage ou, à surface égale, diminuer les capacités de production de l'entreprise de manière significative. L'augmentation de la température de séchage de +13°C à +16°C semble constituer un bon compromis mais n'a pu être testée industriellement compte tenu de la grande taille des installations de séchage industrielles, interdisant la réalisation d'essais à ce stade, sous peine de traiter l'intégralité des productions à +16°C durant plusieurs semaines. Enfin, les tests ont montré que le dosage des pigments nitrosylés sur des saucissons élaborés avec extrait de levure devait être interprété avec prudence. La présence d'extrait de levure tend à faire augmenter artificiellement cet indicateur par formation de ZnPP, pigment naturel caractéristique des salaisons sans conservateurs. Par la seule analyse de la teneur en pigments nitrosylés, le produit sans conservateurs risque ainsi d'être confondu avec un saucisson sec en contenant. Il resterait donc à travailler sur un indicateur alternatif à la méthode actuelle de dosage des pigments nitrosylés différenciant formes nitrosylées et ZnPP.

Concernant le second verrou, l'application de l'étuvage à +16°C dans deux conditions industrielles a donné satisfaction au niveau microbiologique et technique mais sa mise en place nécessite de rallonger la durée de l'étuvage de 24h à 36h pour obtenir le niveau de fleurissement désiré. Il impliquerait donc pour les entreprises désireuses de l'adopter des investissements pour augmenter les surfaces d'étuvage de leur outil de production.

## 5. Références bibliographiques

- [1] Flores, M., & Toldrá, F. (2020). Chemistry, safety, and regulatory considerations in the use of nitrite and nitrate from natural origin in meat products. *Meat Science*, 108272.
- [2] Gassara, F., Kouassi, A. P., Brar, S. K., & Belkacemi, K. (2016). Green alternatives to nitrates and nitrites in meat-based products—a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(13), 2133-2148.
- [3] Sammet, K., Duehlmeier, R., Sallmann, H. P., Von Canstein, C., Von Mueffling, T., & Nowak, B. (2006). Assessment of the antioxidative potential of dietary supplementation with  $\alpha$ -tocopherol in low-nitrite salami-type sausages. *Meat science*, 72(2), 270-279.
- [4] Blanco-Lizarazo, C. M., Sotelo-Díaz, I., Arjona-Roman, J. L., Llorente-Bousquets, A., & Miranda-Ruvalcaba, R. (2018). Effect of starter culture and low concentrations of sodium nitrite on fatty acids, color, and *Escherichia coli* behavior during salami processing. *International journal of food science*, 2018.
- [5] Nikodinoska, I., Baffoni, L., Di Gioia, D., Manso, B., García-Sánchez, L., Melero, B., & Rovira, J. (2019). Protective cultures against foodborne pathogens in a nitrite reduced fermented meat product. *Lwt*, 101, 293-299.
- [6] Jin, Y., Zhang, Y., Liu, D., Liu, D., Zhang, C., Qi, H., ... & Zhou, Z. (2019). Efficient homogenization-ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and flavonols from bog bilberry (*Vaccinium uliginosum* L.) marc with carnosic acid as an antioxidant additive. *Molecules*, 24(14), 2537.
- [7] John, K. M., Enkhtaivan, G., Kim, J. J., & Kim, D. H. (2014). Metabolic variation and antioxidant potential of *Malus prunifolia* (wild apple) compared with high flavon-3-ol containing fruits (apple, grapes) and beverage (black tea). *Food chemistry*, 163, 46-50.
- [8] Ab Rashid, S., Tong, W. Y., Leong, C. R., Abdul Ghazali, N. M., Taher, M. A., Ahmad, N., ... & Teo, S. H. (2021). Anthocyanin microcapsule from *Clitoria ternatea*: Potential bio-preservative and blue colorant for baked food products. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 46, 65-72.
- [9] Muíño, I., de la Fuente, J., Pérez, C., Apeleo, E., Pérez-Santaescolástica, C., Cañeque, V., & Díaz, M. T. (2018). Use of red wine polyphenols as a natural preservative in health-promoting omega-3 fatty acids-enriched lamb patties. *Molecules*, 23(12), 3080.
- [10] Kumudavally, K. V., Phanindrakumar, H. S., Tabassum, A., Radhakrishna, K., & Bawa, A. S. (2008). Green tea—A potential preservative for extending the shelf life of fresh mutton at ambient temperature (25±2 C). *Food chemistry*, 107(1), 426-433.
- [11] Hart, C., Ilanko, P., Sirdaarta, J., Rayan, P., McDonnell, P. A., & Cock, I. E. (2014). *Tasmania stipitata* as a functional food/natural preservative: Antimicrobial activity and toxicity. *Pharmacognosy Communications*, 4(4), 33-47.
- [12] Santos, J., Almajano Pablos, M. P., & Carbó Moliner, R. (2010). Onion, a natural alternative to artificial food preservatives. Review. *Agro food industry hi-tech*, 21(5), 44-46.
- [13] Abdel-Salam, A. F., Shahenda, M. E., & Jehan, B. A. (2014). Antimicrobial and antioxidant activities of red onion, garlic and leek in sausage. *African Journal of Microbiology Research*, 8(27), 2574-2582.
- [14] Faluyi, O. B., Akintomide, A. A., & Onibi, G. (2020). Antimicrobial and antioxidant effects of red onion (*Allium cepa*) on unrefrigerated broiler chicken meat. *Animal Research International*, 17(2), 3665-3673.

- [15] Choi, J. H., Kim, N., Kim, G. W., & Choi, H. Y. (2019). Effect of Cacao Nip extracts (CEs) on quality characteristics of pork patties during cold storage period. *Food science of animal resources*, 39(6), 918.
- [16] Silva, L., Pérez, M., Bravo, L., Radice, M., Sánchez, J., & Andino, M. (2017). Cocoa polyphenols (*Theobroma cacao*) as natural Amazonian antioxidant in sausage fresh. *Proceedings of the MOL2NET*.
- [17] Aminzare, M., Hashemi, M., Ansarian, E., Bimakr, M., Hassanzad Azar, H., Mehrasbi, M. R., ... & Afshari, A. (2019). Using natural antioxidants in meat and meat products as preservatives: A review. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 7(5), 417-426.
- [18] Gubała, D., & Migdał, W. (2021). The use of dried acerola as a substitute for ascorbic acid in cured meats. *Journal of Hygienic Engineering & Design*, 37.
- [19] Wakamatsu J., Kawazoe H., Ohya M., Hayakawa T., Kumura H., 2020. Improving the color of meat products without adding nitrite/nitrate using high zinc protoporphyrin IX-forming microorganism; *Meat science* 161.
- [20] Kauser-Ul-Alam M., Toba Y., Hioki S., Hayakawa T., Kumura H., Wakamatsu J., 2020. *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* Produces Zinc Protoporphyrin IX Both Aerobically and Anaerobically and Improves the Bright Red Color of Fermented Meat Products. *Foods* 9, 1583; doi:10.3390/foods9111583