



**Évaluation de la performance des procédés
d'électrodialyse et de désaération à des fins de
désodorisation d'un hydrolysat de laitance de hareng :
caractérisation des molécules odorantes et des
mécanismes impliqués dans leur retrait**

Thèse

Sarah Todeschini

Doctorat en sciences des aliments

Philosophiæ doctor (Ph. D.)

Québec, Canada

© Sarah Todeschini, 2021

**Évaluation de la performance des procédés
d'électrodialyse et de désaération à des fins de
désodorisation d'un hydrolysate de laitance de
hareng : caractérisation des molécules odorantes et
des mécanismes impliqués dans leur retrait**

Thèse

Sarah Todeschini

Sous la direction de :

Laurent Bazinet, directeur de recherche
Yvan Boutin, codirecteur de recherche

Résumé

En raison de préoccupations environnementales, économiques et sociales, de nombreux efforts ont été déployés au cours des dernières années afin de développer de nouvelles voies de valorisation des co-produits issus de l'industrie de transformation du poisson. À cet effet, il a été constaté que la transformation de ces co-produits en hydrolysats représentait une avenue d'intérêt puisque celle-ci permettait de produire des ressources ayant des activités biologiques. Toutefois, malgré ces aspects prometteurs, les hydrolysats de poisson présentent également l'inconvénient majeur d'être associés à des odeurs déplaisantes ce qui limite leur utilisation. Ainsi, le développement d'une méthode de désodorisation efficace revêt, dans ce contexte, un caractère crucial. L'objectif principal de cette thèse était de développer une méthode de désodorisation appliquée à un hydrolysate de laitance de hareng en évaluant, pour ce faire, la performance des procédés d'électrodialyse (ED) et de désaération à réduire le contenu odorant de cet hydrolysate.

Dans un premier temps, le contenu odorant de l'hydrolysate de laitance de hareng a été caractérisé. Il a alors été démontré que le contenu odorant de cet hydrolysate comprenait 15 composés considérés comme principaux contributeurs à son odeur ainsi que les molécules de diméthylamine (DMA), triméthylamine (TMA) et d'oxyde de triméthylamine (TMAO). Ensuite, la performance des procédés d'ED et de désaération à réduire ce contenu odorant a été évaluée. L'ED ne s'est pas avérée performante à des fins de désodorisation et ce, indépendamment des conditions de pH et de courant testées. En revanche, le procédé de désaération a permis de réduire le contenu des composés considérés comme ayant une contribution significative à l'odeur de l'hydrolysate lorsque le traitement a été conduit à pH 7. Également, il a été constaté que la simple basification de l'hydrolysate à pH 10 permettait de conduire à une diminution significative du contenu des principaux contributeurs à l'odeur de ce dernier.

Dans un second temps, puisque le traitement de désaération à pH 7 ainsi que la simple basification ont été identifiés comme des avenues d'intérêt afin de réduire le contenu odorant de l'hydrolysate de laitance de hareng, un intérêt particulier a été porté à ces deux conditions. Plus précisément, comme les solutions d'hydrolysate correspondant à ces conditions avaient subi en premier lieu un ajustement de pH puis un brassage d'une nuit sous inertie avant que d'être finalement traitées ou non par désaérateur, il demeurait indispensable de venir préciser le rôle respectif de chacune de ces étapes sur le contenu odorant ciblé. Il a alors été démontré que le brassage sous inertie n'avait aucun impact sur le contenu odorant ciblé contrairement au pH et au désaérateur. En effet, à pH 7, le désaérateur s'est avéré performant pour réduire le contenu des principaux contributeurs à

l'odeur de l'hydrolysat du fait de leur meilleure disponibilité. A contrario, le traitement de désaération à pH 10 s'est accompagné d'une diminution dans le contenu en TMA et en DMA du fait de leur meilleure disponibilité sous de telles conditions. Finalement, lorsque la combinaison d'un traitement de désaération à pH 7 et d'une basification subséquente a été évaluée, une baisse significative du contenu des principaux contributeurs à l'odeur de l'hydrolysat a également été observée. Les analyses sensorielles ont confirmé que la combinaison d'un traitement de désaération à pH 7 et d'une basification subséquente ainsi que le simple traitement de désaération à pH 10 étaient les conditions les plus optimales pour désodoriser l'hydrolysat de laitance de hareng.

Finalement, la méthode de désodorisation a été optimisée. À cet effet, la combinaison de traitements de désaération en conditions neutre et basique peut être considérée comme l'avenue la plus optimale afin de désodoriser l'hydrolysat de laitance de hareng. La performance de ces résultats a également été démontrée d'un point de vue sensoriel. De plus, un tel traitement n'a pas affecté la capacité antioxydante de l'hydrolysat de laitance de hareng.

Ainsi, les travaux entrepris dans le cadre de cette thèse ont permis de développer une méthode de désodorisation efficace et simple d'utilisation d'un hydrolysat de laitance de hareng. Ceci offre donc l'opportunité d'accroître le potentiel d'utilisation de cette ressource d'intérêt.

Abstract

Due to environmental, economic and social concerns, many efforts have been made over the past few years to develop new valorization ways of by-products originating from the fish processing industry. For this purpose, the transformation of these by-products into hydrolysates was perceived as a promising avenue since it could result in the production of resources evidencing biological activities. Nevertheless, in spite of these promising aspects, fish hydrolysates present as well the major drawback to be associated with off-flavors limiting their use. Therefore, the development of an effective deodorization method appears to be, in this context, of significant importance. The main objective of this thesis was to develop a deodorization method applied to herring milt hydrolysate by assessing, to do so, the performance of electro dialysis (ED) and deaeration processes to reduce the odorous content of this hydrolysate.

Firstly, the odorous content of herring milt hydrolysate was characterized. It was demonstrated that the odorous content of this hydrolysate included 15 compounds considered as being the main contributors to its odor as well as the molecules of dimethylamine (DMA), trimethylamine (TMA) and trimethylamine oxide (TMAO). Then, the performance of ED and deaeration processes to reduce this odorous content was assessed. At that stage, it was noticed that ED was not effective for deodorization purposes, independently of the pH and current conditions. On the contrary, the deaerator was efficient to reduce the content of the compounds considered as being the most potent odor-active ones of the hydrolysate while the treatment was conducted at pH 7. Also, it was found that the simple basification of the hydrolysate at pH 10 led to a significant decrease in the content of the most potent odor-active compounds.

Secondly, since the deaerator treatment at pH 7 and the simple basification were identified as avenues of interest to reduce the odorous content of herring milt hydrolysate, a particular attention was paid regarding these two conditions. More precisely, since such results were obtained on herring milt hydrolysate solutions whose pH was first adjusted either to 7 or 10 before being stirred overnight with nitrogen and then treated or not by deaerator, in order to develop an optimal deodorization method, it remained essential to clarify the respective role of each of these steps. It was demonstrated that the overnight stirring had no impact on the targeted odorous content on the contrary to pH and deaeration step. In fact, at pH 7, the deaerator was shown to be effective to reduce the content of the most potent odor-active compounds of herring milt hydrolysate due to their better availability. On the contrary, the deaerator treatment at pH 10 was shown to be effective to reduce the DMA and TMA contents due to their better availability under such conditions. Finally, while the combination of the

deaerator treatment at pH 7 and the subsequent basification was assessed, a significant decrease in the content of the most potent odor-active compounds was observed as well. Sensory analyses confirmed that the combination of deaerator treatment at pH 7 and subsequent basification as well as a simple deaerator treatment at pH 10 were the most optimal conditions for the deodorization of herring milt hydrolysate.

Finally, the deodorization method by deaerator was optimized. Deaerator treatments under neutral and basic conditions could be considered as the most optimal avenue for the deodorization of herring milt hydrolysate. The performance of these results was demonstrated from a sensorial point of view as well. Also, such treatment had no impact on the antioxidant capacity of herring milt hydrolysate.

This thesis work allowed to develop an effective and easy-to-use deodorization method of herring milt hydrolysate. Therefore, this represents the opportunity to increase the potential for the use of this valuable resource.

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract	v
Table des matières.....	vii
Liste des figures	xiv
Liste des tableaux.....	xvi
Liste des abréviations, sigles, acronymes.....	xvii
Remerciements.....	xxi
Avant-propos.....	xxiii
Introduction	1
Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique	3
1.1. Les produits d'origine marine	3
1.1.1. Le poisson	3
1.1.1.1. Le poisson : une matrice d'intérêt nutritionnel.....	3
1.1.1.2. Production et utilisation du poisson	4
1.1.1.2.1. Production et utilisation à l'échelle mondiale	4
1.1.1.2.2. Production et utilisation à l'échelle du Canada	5
1.1.1.3. Hareng de l'Atlantique (<i>Clupea harengus</i>).....	5
1.1.2. Les co-produits issus de l'industrie de transformation du poisson et leur valorisation sous forme d'hydrolysats	6
1.1.2.1. Les co-produits issus de l'industrie de transformation du poisson.....	6
1.1.2.1.1. Contexte général.....	6
1.1.2.1.2. Laitance de poisson	7
1.1.2.2. Valorisation des co-produits sous forme d'hydrolysats	8
1.1.2.2.1. Production d'hydrolysats de co-produits de poisson.....	8
1.1.2.2.1.1. Fermentation microbienne.....	9
1.1.2.2.1.2. Hydrolyse chimique	9
A) Hydrolyse acide.....	9
B) Hydrolyse basique	10
1.1.2.2.1.3. Hydrolyse enzymatique.....	11
1.1.2.2.2. Intérêt fonctionnel et bioactif des hydrolysats de co-produits de poisson.....	12
1.1.2.2.2.1. Hydrolysats de hareng de l'Atlantique (<i>Clupea harengus</i>).....	13
1.1.2.2.2.2. Hydrolysats de laitance de hareng.....	15
1.1.2.3. Limites de valorisation des co-produits sous forme d'hydrolysats	16
1.2. Les composés volatils et leur contribution à l'odeur.....	17
1.2.1. Définition et considérations générales	17

1.2.2.	Mécanisme de la perception olfactive	18
1.2.3.	Méthodes d'analyse des composés volatils	19
1.2.3.1.	Extraction des composés volatils	19
1.2.3.1.1.	Généralités.....	19
1.2.3.1.2.	Méthodes d'extraction au solvant.....	19
1.2.3.1.2.1.	Extraction liquide-liquide.....	19
1.2.3.1.2.2.	Distillation à la vapeur et extraction – distillation simultanées.....	20
1.2.3.1.3.	Méthodes d'extraction sans solvant	22
1.2.3.1.3.1.	Méthodes d'extraction de l'espace de tête.....	22
A)	Micro-extraction en phase solide	22
B)	Purge & Trap.....	23
1.2.3.1.3.2.	Extraction au fluide supercritique	24
1.2.3.1.4.	Comparaison de la performance des méthodes d'extraction	25
1.2.3.2.	Dérivation des composés volatils	26
1.2.3.3.	Identification des composés volatils.....	26
1.2.3.3.1.	Principe général de l'analyse par chromatographie gazeuse – spectrométrie de masse.....	26
1.2.3.3.2.	Recherche dans les bases de données.....	27
1.2.3.3.3.	Composés volatils identifiés dans les matrices d'origine marine.....	28
1.2.3.3.4.	Composés volatils identifiés dans le hareng.....	29
1.2.3.4.	Quantification des composés volatils	29
1.2.3.4.1.	Approche quantitative	29
1.2.3.4.2.	Approche semi-quantitative	30
1.2.3.5.	Caractérisation de l'odeur des composés volatils.....	31
1.2.3.5.1.	Chromatographie gazeuse – olfactométrie	31
1.2.3.5.1.1.	Principe général.....	31
1.2.3.5.1.2.	Stratégie de caractérisation de l'odeur des composés volatils par chromatographie gazeuse – olfactométrie.....	32
A)	Caractérisation de l'odeur par approche purement descriptive	32
B)	Caractérisation de l'odeur par la méthode des dilutions successives	33
C)	Caractérisation de l'odeur par la méthode de fréquence de détection.....	34
D)	Caractérisation de l'odeur par la méthode d'intensité de détection.....	34
E)	Caractérisation de l'odeur par des méthodes hybrides	35
F)	Comparaison des stratégies de caractérisation de l'odeur par chromatographie gazeuse – olfactométrie	35
1.2.3.5.2.	Nez électroniques	39
1.2.3.5.3.	Olfactométrie dynamique	39

1.2.3.5.4.	Limites des méthodes de caractérisation de l'odeur des composés volatils	40
1.3.	Le comportement des composés volatils dans les matrices et impact sur leur perception olfactive.....	40
1.3.1.	Propriétés physico-chimiques des composés volatils influençant leur comportement dans les matrices.....	41
1.3.2.	Interactions des composés volatils avec les constituants non-volatils	42
1.3.2.1.	Nature des interactions mises en jeu	42
1.3.2.1.1.	Adsorption et absorption	42
1.3.2.1.2.	Interactions physico-chimiques et liaisons chimiques	42
1.3.2.2.	Principaux constituants non-volatils impliqués dans les interactions avec les composés volatils	43
1.3.2.2.1.	Lipides.....	43
1.3.2.2.2.	Protéines.....	44
1.3.2.2.2.1.	Effet de la nature et de la concentration protéique	46
1.3.2.2.2.2.	Effet de la nature et de la concentration du composé volatil.....	47
1.3.2.2.2.3.	Effet de la force ionique	48
1.3.2.2.2.4.	Effet du pH.....	50
1.3.2.2.2.5.	Effet de la température	51
1.3.3.	Impact des constituants non-volatils sur la perception olfactive des composés volatils.....	52
1.3.3.1.	Impact des lipides.....	52
1.3.3.2.	Impact des protéines.....	53
1.3.4.	Analyses sensorielles et perception olfactive globale	54
1.3.4.1.	Définition	54
1.3.4.2.	Méthodes employées pour les analyses sensorielles	54
1.3.4.2.1.	Méthodes discriminatives.....	54
1.3.4.2.2.	Méthodes descriptives	55
1.3.4.2.3.	Méthodes hédoniques.....	56
1.4.	Méthodes de désodorisation des produits d'origine marine.....	56
1.4.1.	Méthodes biologiques	56
1.4.2.	Méthodes chimiques.....	58
1.4.2.1.	Ozonation	58
1.4.2.2.	Antioxydants	59
1.4.3.	Méthodes physiques	60
1.4.3.1.	Méthodes d'extraction.....	60
1.4.3.1.1.	Extraction liquide-liquide.....	60
1.4.3.1.2.	Extraction au fluide supercritique	61
1.4.3.2.	Méthodes d'adsorption.....	62

1.4.3.2.1.	Adsorption sur charbon actif	62
1.4.3.2.2.	Adsorption sur zéolithes	63
1.5.	Méthodes présentant un potentiel à des fins de désodorisation.....	64
1.5.1.	Procédés membranaires	64
1.5.1.1.	Procédés baromembranaires	64
1.5.1.1.1.	Principe général	64
1.5.1.1.2.	Membranes de filtration	65
1.5.1.1.3.	Procédés baromembranaires et composés volatils	65
1.5.1.2.	Procédés électromembranaires	67
1.5.1.2.1.	Principe général	67
1.5.1.2.2.	Membranes d'électrodialyse.....	68
1.5.1.2.2.1.	Membranes monopolaires	68
1.5.1.2.2.2.	Membranes bipolaires	69
1.5.1.2.2.3.	Membranes d'ultrafiltration	70
1.5.1.2.3.	Procédés électromembranaires et composés volatils.....	70
1.5.2.	Procédé de désaération	73
1.5.2.1.	Principe général.....	73
1.5.2.2.	Procédé de désaération et composés volatils.....	74
	Chapitre 2 : Hypothèse et objectifs.....	75
2.1.	Problématique	75
2.2.	Hypothèse de recherche	76
2.3.	Objectifs de recherche.....	76
	Chapitre 3 : Évaluation de la performance de l'électrodialyse à éliminer les principaux contributeurs à l'odeur d'un hydrolysate de laitance de hareng : identification des phénomènes de colmatage des membranes échangeuses d'ions et de dissociation des molécules d'eau en tant que conditions limites du procédé.....	78
	Transition Contextuelle.....	79
	Résumé.....	80
	Abstract	81
3.1.	Introduction	82
3.2.	Materials and Methods	84
3.2.1.	Materials.....	84
3.2.1.1.	Chemicals	84
3.2.1.2.	HMH	84
3.2.2.	Methods.....	85
3.2.2.1.	Protocols.....	85
3.2.2.1.1.	Volatile Compound Analyses.....	85

3.2.2.1.1.1.	Volatile Compound Extraction.....	85
3.2.2.1.1.2.	Volatile Compound Identification.....	86
3.2.2.1.1.3.	Most Potent Odor-Active Volatile Compound Determination.....	86
3.2.2.1.1.4.	Analysis of the TMAO, TMA and DMA Contents.....	87
3.2.2.1.2.	Deodorization by ED.....	87
3.2.2.1.2.1.	ED Cell and Configuration.....	87
3.2.2.1.2.2.	ED Parameters.....	88
3.2.2.1.2.3.	Comparison with a Deaerator.....	89
3.2.2.2.	Analyses.....	89
3.2.2.2.1.	pH.....	89
3.2.2.2.2.	Conductivity.....	89
3.2.2.2.3.	Ash Content.....	90
3.2.2.2.4.	Global System Resistance.....	91
3.2.2.2.5.	Membrane Thickness.....	91
3.2.2.2.6.	Membrane Electrical Conductivity.....	91
3.2.2.2.7.	Volatile Compound Content.....	91
3.2.2.2.8.	Statistical Analyses.....	92
3.3.	Results and Discussion.....	92
3.3.1.	Volatile Compound Analyses.....	92
3.3.1.1.	Overall Content in Volatile Compounds.....	92
3.3.1.2.	Most Potent Odor-Active Volatile Compounds.....	97
3.3.2.	Deodorization by ED.....	101
3.3.2.1.	ED Parameters.....	101
3.3.2.1.1.	pH.....	101
3.3.2.1.2.	Conductivity.....	104
3.3.2.1.3.	Ash Content.....	107
3.3.2.1.4.	Global System Resistance.....	109
3.3.2.1.5.	Membrane Thickness.....	110
3.3.2.1.6.	Membrane Conductivity.....	113
3.3.2.2.	Hydrolysate and Recovery Solutions Analyses.....	118
3.3.2.2.1.	Volatile Compound Analysis.....	118
3.3.2.2.1.1.	Most Potent Odor-Active Compounds.....	118
3.3.2.2.1.2.	TMAO, TMA and DMA.....	125
3.4.	Conclusion.....	129
3.5.	Acknowledgements.....	130
	Atteinte des objectifs et avancement des connaissances.....	131

Chapitre 4 : Développement d'une nouvelle méthode de désodorisation d'un hydrolysate de laitance de hareng : impacts du pH, d'un brassage sous inertie et d'un traitement de désaération sur le contenu odorant	132
Transition Contextuelle.....	133
Résumé.....	134
Abstract.....	135
4.1. Introduction.....	136
4.2. Materials and Methods.....	137
4.2.1. Materials.....	137
4.2.1.1. Chemicals.....	137
4.2.1.2. Herring Milt Hydrolysate (HMH).....	138
4.2.2. Methods.....	138
4.2.2.1. Protocol.....	138
4.2.2.2. Analyses.....	139
4.2.2.2.1. Volatile Compound Analyses.....	139
4.2.2.2.1.1. DMA, TMA and TMAO Contents.....	139
4.2.2.2.1.2. Most Potent Odor-Active Compound Contents.....	140
A) Most Potent Odor-Active Compound Extraction.....	140
B) Most Potent Odor-Active Compound Determination.....	140
4.2.2.2.2. Sensory Analysis.....	140
4.2.2.2.3. Statistical Analyses.....	141
4.3. Results and Discussion.....	142
4.3.1. Volatile Compound Analyses.....	142
4.3.1.1. DMA, TMA and TMAO Contents.....	142
4.3.1.2. Most Potent Odor-Active Compound Contents.....	147
4.3.2. Sensory Analysis.....	155
4.4. Conclusion.....	156
4.5. Acknowledgements.....	157
Atteinte des objectifs et avancement des connaissances.....	158
Chapitre 5 : Impacts du pH et de la substitution de la base lors de traitements de désaération d'un hydrolysate de laitance de hareng sur le contenu odorant et l'activité antioxydante.....	160
Transition Contextuelle.....	161
Résumé.....	163
Abstract.....	164
5.1. Introduction.....	165
5.2. Materials and Methods.....	167
5.2.1. Materials.....	167

5.2.1.1.	Chemicals.....	167
5.2.1.2.	Herring Milt Hydrolysate (HMH).....	167
5.2.2.	Methods.....	167
5.2.2.1.	Protocol.....	167
5.2.2.2.	Analyses.....	168
5.2.2.2.1.	Volatile Compound Analyses.....	168
5.2.2.2.1.1.	DMA, TMA and TMAO.....	168
5.2.2.2.1.2.	Most Potent Odor-Active Compounds.....	169
A)	Most Potent Odor-Active Compound Extraction.....	169
B)	Most Potent Odor-Active Compound Determination.....	169
5.2.2.2.2.	Sensory Analysis.....	170
5.2.2.2.3.	Antioxydant Activity.....	170
5.2.2.2.3.1.	Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC).....	170
5.2.2.2.3.2.	DPPH radical scavenging capacity.....	171
5.2.2.2.4.	Statistical Analyses.....	171
5.3.	Results and Discussion.....	172
5.3.1.	Volatile Compound Analyses.....	172
5.3.1.1.	DMA, TMA, TMAO.....	172
5.3.1.1.1.	Effects of a 15-min Stirring.....	172
5.3.1.1.2.	Effects of a Single 30-min Deaerator Treatment.....	174
5.3.1.1.3.	Effects of a Combination of 15-min Deaerator Treatments.....	176
5.3.1.2.	Most Potent Odor-Active Compounds.....	179
5.3.1.2.1.	Effects of a 15-min Stirring.....	179
5.3.1.2.2.	Effects of a Single 30-min Deaerator Treatment.....	180
5.3.1.2.3.	Effects of a Combination of 15-min Deaerator Treatments.....	181
5.3.1.3.	General Discussion on Volatile Compounds.....	185
5.3.2.	Sensory Analysis.....	186
5.3.3.	Antioxidant Activity.....	188
5.3.3.1.	ORAC.....	188
5.3.3.2.	DPPH Radical Scavenging Activity.....	192
5.4.	Conclusion.....	196
5.5.	Acknowledgements.....	197
	Atteinte des objectifs et avancement des connaissances.....	198
	Conclusion générale.....	199
	Principaux résultats.....	199
	Conclusion.....	201
	Bibliographie.....	206

Liste des figures

Figure 1-1. Production mondiale liée à la pêche et à l'aquaculture (d'après la FAO [1]).....	5
Figure 1-2. Principaux co-produits générés lors de la transformation du poisson et leur pourcentage (d'après Rustad et al. (2011) et Nawaz et al. (2020) [3,23]).....	6
Figure 1-3. Mécanisme d'action des protéases.....	12
Figure 1-4. Résumé des principales propriétés fonctionnelles et biologiques des hydrolysats de co-produits de poisson.....	13
Figure 1-5. Représentation schématique du système olfactif humain. Les composés volatils représentés par la lettre "O" empruntent la voie orthonasale tandis que les composés volatils représentés par la lettre "R" empruntent la voie rétronasale (tiré de Dietrich (2009) [69])	18
Figure 1-6. Représentation schématique du procédé de LLE. Les composés volatils récupérés dans la phase organique sont représentés en rouge	20
Figure 1-7. Procédé d'extraction par SPME suivi d'une analyse par chromatographie gazeuse – spectrométrie de masse (tiré de Schmidt et Podmore (2015) [85]).....	23
Figure 1-8. Procédé d'extraction P&T suivi d'une analyse par chromatographie gazeuse – spectrométrie de masse (tiré de Schmidt et Podmore (2015) [85]).....	24
Figure 1-9. Molécules de (a) TMAO, (b) TMA et (c) DMA.....	29
Figure 1-10. Appareillage de la GC-O ne se distinguant que de la simple GC par la division du flux en sortie de colonne : une partie se dirige vers un détecteur tel qu'un détecteur FID (ou tout autre type de détecteur) et une autre partie se dirige vers le port olfactométrique (d'après Fernandez et al. (2009) [103]).....	32
Figure 1-11. (a) Base de Schiff résultant de la réaction entre le (E)-2-hexènal et la lysine (b) Addition de Michael entre le (E)-2-hexènal et la lysine (tiré de Meynier et al. (2004) [154])	45
Figure 1-12. Représentation schématique de l'impact de la concentration protéique sur la rétention des composés volatils.....	47
Figure 1-13. Représentation schématique de l'impact de la force ionique sur la rétention des composés volatils par les représentants protéiques	50
Figure 1-14. Procédés baromembranaires différenciés selon la taille des pores et les pressions appliquées (adapté de Bazinet et al. (2019) [192]).....	65
Figure 1-15. Principe de l'ED conventionnelle appliqué à une solution de NaCl (adapté de Bazinet (2019) [197])	68
Figure 1-16. Principe de fonctionnement d'une membrane bipolaire (adapté de Bazinet (2019) [197])	69
Figure 1-17. Principe de fonctionnement de l'EDUF (adapté de Bazinet (2019) [197])	70
Figure 1-18. Représentation schématique d'un désaérateur sous-vide (adaptée de García-Torres et al. (2009) [201])	73
Figure 3-1. Electrodialysis cell configuration; V+: cationic volatile compounds, AEM: anion-exchange membrane, CEM: cation-exchange membrane	88
Figure 3-2. pH evolution in HMH solutions at pH 4 and 7, and in the corresponding KCl recovery solutions treated with and without current during ED treatments of 240 min	102
Figure 3-3. Conductivity evolution in HMH solutions at pH 4 and 7, and in the corresponding KCl recovery solutions, treated with and without current during ED treatments of 240 min	105
Figure 3-4. Global system resistance evolution during ED treatments of 240 min at pH 4 and pH 7, with current	110
Figure 3-5. Membrane thickness before and after each 4-h ED treatment conducted at pH 4, (a) without current and (b) with current. Values with different letters corresponding to the same membranes are significantly different $p < 0.05$ (Tukey test)	111

Figure 3-6. Membrane thickness before and after each 4-h ED treatment conducted at pH 7, (a) without current and (b) with current. Values with different letters corresponding to the same membranes are significantly different, $p < 0.05$ (Tukey test)	112
Figure 3-7. Membrane conductivity before and after each 4-h ED treatments conducted at pH 4, (a) without current and (b) with current. Values with different letters corresponding to the same membranes are significantly different $p < 0.05$ (Tukey test)	114
Figure 3-8. Membrane conductivity before and after each 4-h ED treatments conducted at pH 7, (a) without current and (b) with current. Values with different letters corresponding to the same membranes are significantly different $p < 0.05$ (Tukey test)	115
Figure 4-1. Summary of the eleven treatments performed on HMH.....	139
Figure 5-1. Summary of the experimental protocol	168
Figure 5-2. Antioxidant Activity of the HMH solutions ($\mu\text{mol TE/g}$) corresponding to the different tested conditions and determined by the ORAC test (mean \pm standard deviation); Values with different lowercase letters (a-b) within the same concentration are significantly different $p < 0.05$ (Tukey Test); values with different uppercase letters (A-B) within the same condition are significantly different $p < 0.05$ (t-test)	191
Figure 5-3. Antioxidant Activity of the HMH solutions corresponding to the different tested conditions and determined by the DPPH test (mean \pm standard deviation) expressed in DPPH Scavenging Activity (%); Values with different lowercase letters (a-e) within the same concentration are significantly different $p < 0.05$ (Tukey Test); values with different uppercase letters (A-B) within the same condition are significantly different $p < 0.05$ (t-test)	194
Figure 5-4. Antioxidant Activity of the HMH solutions corresponding to the different tested conditions and determined by the DPPH test (mean \pm standard deviation) expressed in $\mu\text{mol TE/g}$; Values with different lowercase letters (a-f) within the same concentration are significantly different $p < 0.05$ (Tukey Test); values with different uppercase letters (A-B) within the same condition are significantly different $p < 0.05$ (t-test)	195

Liste des tableaux

Tableau 1-1. Propriétés fonctionnelles et biologiques des hydrolysats de hareng de l'Atlantique (<i>Clupea harengus</i>)	15
Tableau 1-2. Composés volatils couramment rapportés dans les matrices d'origine marine et leurs caractéristiques olfactives (liste non exhaustive)	36
Table 3-1. Chemical composition of the herring milt hydrolysate (HMH) according to the manufacturer specifications.....	85
Table 3-2. Volatile compounds identified in HMH.....	95
Table 3-3. Most potent odor-active volatile compounds of HMH	100
Table 3-4. Ash content of the HMH at the initial time and after the different ED treatments (mean \pm standard deviation)	108
Table 3-5. Ash content of the KCl recovery solution at initial time and after the different ED treatments (mean \pm standard deviation)	109
Table 3-6. Abundance of the most-potent odor active compounds of HMH ($\times 10^7$ Arbitrary Unit (A.U)) at the initial time and after the different treatments (mean \pm standard deviation).....	124
Table 3-7. Abundance of the most-potent odor active compounds of HMH recovered in the KCl solution ($\times 10^7$ A.U) after the different ED treatments (mean \pm standard deviation)	125
Table 3-8. TMA, DMA and TMAO content of HMH at the initial time and after the different treatments (mean \pm standard deviation)	128
Table 3-9. TMA, DMA and TMAO content of KCl recovery solution at initial time and after the different ED treatments (mean \pm standard deviation)	128
Table 4-1. DMA, TMA and TMAO contents of HMH after dissolution and after the different treatments (mean \pm standard deviation)	146
Table 4-2. Abundance of the most potent odor-active compounds of HMH ($\times 10^7$ Arbitrary Unit (U.A.)) after dissolution and after the different treatments (mean \pm standard deviation)	154
Table 4-3. S scores given by the twenty panel members for the five assessed conditions	156
Table 5-1. DMA, TMA and TMAO contents of HMH (in part per million (ppm)) after the 15-min stirring and after the different treatments (mean \pm standard deviation)	178
Table 5-2. Abundance of the most potent odor-active compounds of HMH ($\times 10^7$ Arbitrary Unit (U.A.)) after the 15-min stirring and after the different treatments (mean \pm standard deviation)...	184
Table 5-3. S scores given by the panel members to the five conditions subjected to sensory analysis	188

Liste des abréviations, sigles, acronymes

ACE : Angiotensin Converting Enzyme / Enzyme de Conversion de l'Angiotensine
AECA : Aroma Extract Concentration Analysis / Analyse par Concentration d'Extrait d'Arôme
AEDA : Aroma Extract Dilution Analysis / Analyse par Dilution d'Extrait d'Arôme
AEM / MEA : Anion-Exchange Membrane / Membrane Echangeuse d'Anions
ADN : Acide Désoxyribonucléique
a.m.u : Atomic Mass Unit / Unité de Masse Atomique
CAR : Carboxen
Charm : Combined Hedonic of Aromatic Response Measurement / Analyse de la Mesure de l'Occurrence du Plaisir d'une Réponse Aromatique
CEM / MEC : Cation-Exchange Membrane / Membrane Echangeuse de Cations
DHA : Acide Docosahexaénoïque
DMA : Dimethylamine / Diméthylamine
DVB : Divinylbenzène
ED : Electrodialysis / Electrodialyse
EDUF : Electrodialyse avec Membranes d'Ultrafiltration
EI : Electron Ionization / Ionisation Electronique
EPA : Acide Eicosapentaénoïque
FAO : Food and Agricultural Organization of United States / Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
FD : Facteur de Dilution
FID : Flame Ionization Detector / Détecteur à Ionisation de Flamme
GC : Gas Chromatography / Chromatographie Gazeuse
GC-MS : Gas Chromatography – Mass Spectrometry / Chromatographie Gazeuse – Spectrométrie de Masse
GC-O : Gas Chromatography – Olfactometry / Chromatographie Gazeuse – Olfactométrie
HCl : Hydrochloric Acid / Acide Chlorhydrique
HD-SME : Hydrodistillation with Solvent Micro-Extraction / Micro-Extraction avec Solvant combinée à l'Hydrodistillation
HMH : Herring Milt Hydrolysate / Hydrolysate de Laitance de Hareng
IEM : Ion-Exchange Membrane / Membrane Echangeuse d'Ions
IL-6 : Interleukines 6
LCD : Limiting Current Density / Densité de Courant Limite
LLE : Liquid-Liquid Extraction / Extraction Liquide-Liquide
MBP : Membrane Bipolaire
MESI : Membrane Extraction with Sorbent Interface / Extraction sur Membrane avec Interface de Sorption
MW-SDE : Simultaneous Distillation Extraction Microwave-Assisted / Extraction Distillation Assistée par Microondes
m/z : mass/charge / masse/charge
NaOH : Sodium hydroxide / Hydroxyde de Sodium
NIF : Nasal Impact Frequency / Fréquence de l'Impact Nasal
NIST : National Institute of Standards and Technology
NPD : Nitrogen-Phosphorus Detector / Détecteur Azote-Phosphore
OAV : Odor Activity Value / Valeur de l'Activité Odorante
OBP : Odorant Binding Protein / Protéine liant les Odeurs
ODP : Olfactory Detection Port / Port de Détection Olfactométrique
OSME : Odor Specific Magnitude Estimation / Estimation de l'Intensité Spécifique de l'Odeur
PDMS : Polydiméthylsiloxane

pI : Point Isoélectrique
P&T : Purge & Trap
PTV : Programmed Temperature Vaporizer / Température Programmée de Vaporisation
QDA : Quantitative Descriptive Analysis / Analyse Descriptive Quantitative
SBSE : Stir Bar Sorptive Extraction / Extraction par Sorption sur Barreau Magnétique
SD : Steam Distillation / Distillation à la Vapeur
SDE : Simultaneous Distillation Extraction / Extraction-Distillation Simultanées
SDE-SV : Simultaneous Distillation Extraction under Static Vacuum / Extraction Distillation Simultanées Sous-Vide
SFE : Supercritical Fluid Extraction / Extraction avec Fluide Supercritique
SIDA : Stable Isotope Dilution Assays / Dilution d'Isotopes Stables
SNIF : Surface Nasal Impact Frequency / Fréquence de l'Impact Nasal de Surface
SPME : Solid-Phase Micro-Extraction / Micro-Extraction en Phase Solide
TIM : Time-Intensity Methods / Méthodes de Temps-Intensité
TMA : Trimethylamine / Triméthylamine
TMAO : Trimethylamine oxide / Oxyde de Triméthylamine
TNF α : Tumor Necrosis Factor α / Facteur de Nécrose Tumorale α
TOF : Time of Flight / Temps de Vol
USD : United States Dollar / Dollar Américain
VIDEO : Vocabulary-Intensity-Duration of Elementary Odors by Sniffing / Méthode de l'Intensité Postérieure

A ma famille, mon compagnon et mes ami(e)s

Remerciements

Je tenais tout d'abord à remercier mon directeur de recherche, le Professeur Laurent Bazinet, de m'avoir donné l'opportunité de réaliser mon doctorat au sein de son équipe. Merci de m'avoir tant appris et d'avoir su te montrer toujours disponible. Je ne te serais jamais assez reconnaissante pour tout ce que tu m'as apporté. Je n'aurais pas pu rêver mieux comme équipe de recherche afin d'y réaliser mon doctorat.

J'aimerais aussi remercier mon codirecteur de recherche, le Professeur Yvan Boutin, pour sa disponibilité ainsi que sa bienveillance perpétuelle. Merci également pour votre enthousiasme dès lors que je vous communiquais les avancées relatives à mon projet. Ceci a été une source de motivation importante pour moi tout au long de mon doctorat.

Je tenais également à adresser mes remerciements à Ocean NutraSciences Inc., partenaire industriel de cette thèse. J'ai apprécié chacune de nos rencontres. Ceci s'est toujours avéré être une aide très précieuse afin d'œuvrer en faveur de l'avancement de ce projet. Merci pour votre confiance.

Je remercie également les collaborateurs de ce projet, le Professeur Charles Goulet, Pascal Dubé et Mélanie Bouchard. Je suis très reconnaissante de votre disponibilité ainsi que de votre précieuse aide tout au long de ce projet.

J'aimerais également adresser mes remerciements au Professeur Jean-Christophe Vuillemard pour avoir gentiment accepté d'effectuer la prélecture de mon manuscrit de thèse ainsi qu'aux Professeures Carole Prost et Lucie Beaulieu pour avoir généreusement accepté d'évaluer cette thèse de doctorat.

J'aimerais aussi remercier nos deux professionnelles de recherche, Véronique Perreault et Jacinthe Thibodeau. Je ne saurais jamais assez suffisamment vous remercier pour tout ce que vous m'avez apporté lors de ce doctorat, et ce, tant au niveau professionnel qu'au niveau personnel. Cette équipe ne serait pas celle qu'elle est sans vous. Vous y apportez tellement de bonne humeur et de bienveillance. Merci pour tout.

Je remercie également tou(te)s mes ami(e)s d'ici sans qui cette aventure québécoise n'aurait pas été aussi belle et agréable. Aussi, merci infiniment à tous mes collègues et anciens collègues qui, ont toujours su apporter de la bonne humeur au sein du laboratoire et en réunion d'équipe.

Aussi, je tenais à adresser mes remerciements les plus sincères à ma famille et à mon compagnon, Boris. Plus particulièrement, je remercie ma maman et mon frère, Kévin. Les mots me manquent pour vous dire à quel point je me sens chanceuse de vous avoir dans ma vie. Aussi, Boris, je te remercie du plus profond de mon cœur pour ton soutien inconditionnel, merci pour tout ce que tu m'apportes. Finalement, j'ai une pensée toute particulière pour mon papa et mon grand-père, Marino. J'aurais tellement aimé vous avoir auprès de moi encore aujourd'hui.

Avant-propos

La présente thèse de doctorat comporte cinq chapitres. Le premier chapitre de ce manuscrit qui fait suite à une introduction générale, est une revue de littérature faisant un état des lieux des connaissances actuelles liées aux différentes problématiques entourant le sujet de doctorat. Plus précisément, cette revue de littérature se divise en cinq parties. La première partie traite des enjeux relatifs aux co-produits issus de l'industrie de transformation du poisson et à leur valorisation. Les deuxième et troisième parties s'intéressent aux composés volatils et à leur contribution à l'odeur des matrices d'origine marine. La quatrième partie se consacre aux méthodes actuellement disponibles afin de procéder à la désodorisation des matrices d'origine marine. Finalement, la cinquième et dernière partie porte une attention particulière aux procédés membranaires et de désaération qui présentent un certain potentiel à être employés en tant que nouvelles méthodes de désodorisation. Le deuxième chapitre énonce l'hypothèse et les objectifs de recherche qui ont découlé de la revue de littérature. Les chapitres trois, quatre et cinq, présentés sous la forme d'articles scientifiques, correspondent aux travaux de recherche entrepris dans le cadre de la thèse. Finalement, cette thèse est conclue en abordant une conclusion générale relative aux travaux réalisés et aux perspectives qui en découlent.

Les chapitres un et deux sont rédigés en français tandis que les chapitres trois, quatre et cinq le sont en anglais.

Le troisième chapitre fait référence au premier article de recherche intitulé « **Assessment of the Performance of Electrodialysis in the Removal of the Most Potent Odor-Active Compounds of Herring Milt Hydrolysate: Focus on Ion-Exchange Membrane Fouling and Water Dissociation as Limiting Process Conditions** ». Cet article a été publié dans le journal *Membranes* en juin 2020. Les auteurs de cet article sont Sarah Todeschini, Véronique Perreault, Charles Goulet, Mélanie Bouchard, Pascal Dubé, Yvan Boutin et Laurent Bazinet.

Le quatrième chapitre fait référence au deuxième article de recherche intitulé « **Development of a New Deodorization Method of Herring Milt Hydrolysate: Impacts of pH, Stirring with Nitrogen and Deaerator Treatment on the Odorous Content** ». Cet article a été publié dans le journal *Foods* en avril 2021. Les auteurs de cet article sont Sarah Todeschini, Véronique Perreault, Charles Goulet, Mélanie Bouchard, Pascal Dubé, Yvan Boutin et Laurent Bazinet. Les résultats de cet article ont été présentés lors du congrès virtuel GreenFoodTech (Québec, QC, Canada) en avril

2021 et lors du symposium étudiant virtuel de l'Institut sur la Nutrition et les Aliments Fonctionnels (INAF, Québec, QC, Canada) en mai 2021.

Le cinquième chapitre fait référence au troisième article de recherche intitulé « **Impacts of pH and Base Substitution during Deaerator Treatments of Herring Milt Hydrolysate on the Odorous Content and the Antioxidant Activity** ». Cet article est actuellement en attente de décision quant à la soumission d'un brevet. Les auteurs de cet article sont Sarah Todeschini, Véronique Perreault, Charles Goulet, Mélanie Bouchard, Pascal Dubé, Yvan Boutin et Laurent Bazinet.

Pour chacun de ces articles, Sarah Todeschini s'est chargée de la planification et de la réalisation des travaux de recherche, du traitement et de l'analyse des résultats ainsi que de la rédaction des articles. À cet effet, elle est la première auteure de chacun de ces articles. Véronique Perreault, le Professeur Charles Goulet, Mélanie Bouchard, Pascal Dubé, le Professeur Yvan Boutin et le Professeur Laurent Bazinet sont co-auteurs de chacun de ces articles. Véronique Perreault a participé à la supervision scientifique de l'étudiante ainsi qu'à la correction et la révision des articles. Le Professeur Charles Goulet a supervisé les travaux de recherche et a participé à la correction et à la révision des articles. Mélanie Bouchard et Pascal Dubé ont été des collaborateurs scientifiques du projet et ont pris part à la correction et à la révision des articles. Le Professeur Yvan Boutin, codirecteur du projet de doctorat, a participé à la correction et à la révision des articles. Finalement, le Professeur Laurent Bazinet, directeur du projet de doctorat, s'est chargé de la supervision scientifique de l'étudiante, de la correction et de la révision des articles.

Introduction

Au cours des dernières années, la consommation mondiale de poisson a connu un véritable essor. Cet engouement résulte de la combinaison de différents facteurs parmi lesquels figurent une meilleure disponibilité des ressources d'origine marine rendue possible grâce à l'aquaculture ainsi qu'une sensibilisation accrue des consommateurs aux bienfaits de la consommation de telles denrées pour la santé humaine [1]. Toutefois, en raison de la croissance continue de la consommation de poisson, les quantités de co-produits générées n'ont cessé de croître. D'une manière générale est définie comme co-produit toute partie du poisson qui n'est pas retenue pour la consommation humaine lors d'une étape de transformation. Chez le poisson, ces co-produits incluent notamment la tête, les viscères, les chutes de filetage, le squelette, la peau ainsi que les œufs des individus femelles et la laitance des individus mâles [2,3]. Selon l'espèce et le procédé de transformation, ces co-produits peuvent représenter entre 50 et 80% du poids vif du poisson [4,5]. Dans une démarche visant à satisfaire les défis liés à une population en perpétuelle croissance et à garantir une utilisation plus éco-responsable des ressources d'origine marine, de nombreux efforts ont été apportés afin d'identifier des voies de valorisation durables de ces co-produits [6]. À cet égard, la valorisation de ces co-produits sous forme d'hydrolysats a récemment gagné un intérêt croissant. En effet, leur modification par voie enzymatique principalement permet d'accroître le potentiel bioactif des protéines natives contenues dans ces co-produits [4]. Ceci fut notamment constaté pour l'hydrolysate de laitance de hareng pour lequel des propriétés anti-inflammatoire, antioxydante et anti-diabète ont été rapportées [7–11]. Néanmoins, malgré ces aspects prometteurs, les hydrolysats de poisson présentent également l'inconvénient majeur de véhiculer des odeurs déplaisantes et l'hydrolysate de laitance ne déroge pas à cette tendance. Ainsi, afin de promouvoir la valorisation de ces ressources, le développement d'une méthode de désodorisation efficace revêt un caractère crucial [12].

D'une manière générale, la présence d'odeurs déplaisantes dans les matrices d'origine marine telles que les hydrolysats de poisson est attribuée à la contribution de composés volatils appartenant aux différentes classes de la chimie organique. Parmi ces composés, la triméthylamine (TMA) et la diméthylamine (DMA), deux amines véhiculant une très forte odeur de poisson, sont les sources les plus connues d'odeurs déplaisantes dans ce genre de matrices [13]. Toutes deux sont issues de la dégradation de l'oxyde de triméthylamine (TMAO), un osmorégulateur retrouvé chez de nombreuses espèces de poisson [14]. Outre ces composés azotés, les carbonyles et les alcools ont également été identifiés comme étant des sources d'odeurs déplaisantes dans les matrices d'origine marine. Ces composés sont principalement formés au cours des réactions d'oxydation des acides gras polyinsaturés contenus dans ce genre de matrices [12]. Cependant, malgré les similarités pouvant exister entre les profils odorants des différentes matrices d'origine marine, leur contenu en composés volatils est influencé par de nombreux facteurs parmi lesquels figurent la nature de la matrice initiale et sa composition en acides

gras polyinsaturés, le procédé de transformation ou encore les conditions de stockage employées. Ainsi, dans le cadre d'une problématique de désodorisation, il demeure indispensable de procéder en premier lieu à la caractérisation du contenu odorant de la matrice d'intérêt afin de pouvoir, dans un second temps, développer une méthode de désodorisation optimale.

De nos jours, différentes stratégies de désodorisation ont été mises en œuvre. Ces stratégies peuvent être, selon leur principe, regroupées en trois groupes : stratégies biologiques, stratégies chimiques et stratégies physiques. Bien que ces stratégies aient déjà démontré leur pertinence à différents niveaux, toutes semblent être associées à des désavantages qui, aujourd'hui, limitent leur utilisation. De ce fait, le développement de nouvelles stratégies de désodorisation représente un défi majeur afin de permettre la promotion de la valorisation des co-produits issus de l'industrie de transformation du poisson sous forme d'hydrolysats. Parallèlement à cela, les procédés d'électrodialyse (ED) et de désaération qui pourtant, n'ont encore jamais été employés à des fins de désodorisation, présenteraient un certain potentiel à l'être. En effet, des études ont déjà rapporté que de tels procédés pouvaient s'accompagner d'une baisse du contenu odorant de la matrice traitée [15–18]. Ce constat est d'un intérêt majeur dans le cadre d'une telle problématique dans la mesure où l'objectif principal d'une méthode de désodorisation est de précisément conduire à une diminution du contenu odorant de la matrice traitée.

Dans un tel contexte, l'objectif principal de la présente thèse était donc d'évaluer le potentiel des procédés d'ED et de désaération à être utilisés en tant que méthode de désodorisation d'un hydrolysat de laitance de hareng. Dans un premier temps, le contenu odorant de cet hydrolysat a été caractérisé afin de déterminer les composés que le procédé de désodorisation devait cibler. Puis, a été évalué l'impact des traitements par ED et par désaérateur sur le contenu odorant de l'hydrolysat testé. Dans un second temps, la compréhension relative au procédé ayant démontré la plus haute performance a été approfondie. Finalement, une optimisation du procédé de désodorisation a été mise en œuvre.

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

1.1. Les produits d'origine marine

1.1.1. Le poisson

1.1.1.1. Le poisson : une matrice d'intérêt nutritionnel

Au cours des dernières années, la consommation mondiale des produits d'origine marine n'a cessé de croître. En effet, celle-ci est passée de 9,0 kg/personne/an en 1961 à 20,5 kg/personne/an en 2018 ce qui, représente une croissance annuelle d'environ 1,5% [1]. Cet attrait à l'égard des produits d'origine marine résulte de la combinaison de différents facteurs parmi lesquels figure notamment une sensibilisation accrue des consommateurs aux bienfaits de la consommation du poisson pour la santé humaine [1]. Dans le cadre d'une alimentation diversifiée et saine, le poisson est une ressource alimentaire clef en raison de sa teneur en éléments essentiels tels que les protéines, les lipides, les vitamines ou encore les minéraux. Plus précisément, il a été estimé que les protéines du poisson représentaient 17% des protéines animales consommées dans le monde et constituaient la troisième source de protéines la plus consommée après les céréales et le lait à l'échelle mondiale [1,19]. Les protéines du poisson sont de haute qualité nutritionnelle de par leur teneur en acides aminés essentiels tels que la lysine et la méthionine [19]. Également, le poisson renferme de la taurine, un acide aminé impliqué dans de nombreuses fonctions biologiques et physiologiques [20]. De plus, comparativement aux produits carnés, le poisson présente une teneur supérieure en protéines tout en ayant une densité calorique plus faible [19]. La teneur en protéines est généralement semblable d'une espèce de poisson à l'autre. Outre les protéines, l'intérêt nutritionnel du poisson repose également sur sa teneur en lipides et plus précisément sur celle en acides gras polyinsaturés oméga-3 tels que l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA). En effet, les bénéfices pour la santé humaine de ces derniers, notamment au niveau de la prévention des maladies cardio-vasculaires, sont aujourd'hui bien connus [19]. Toutefois, tous les poissons ne sont pas égaux en termes de contenus en lipides. À cet effet, sont distingués les poissons maigres contenant généralement 0,5% de lipides, tels que la morue et l'aiglefin, des poissons gras renfermant de 10 à 20% de lipides, tels que le hareng ou le saumon. Finalement, l'intérêt nutritionnel du poisson repose également sur son contenu en vitamines et minéraux. Les vitamines couramment rencontrées dans le poisson incluent la vitamine A, la vitamine D ou encore la vitamine E tandis que les minéraux rencontrés comprennent le calcium, le magnésium, le zinc, l'iode, le fer, le cuivre ou encore le sélénium. Comparativement aux produits carnés, le poisson renferme davantage de vitamines et de minéraux [19].

1.1.1.2. Production et utilisation du poisson

1.1.1.2.1. Production et utilisation à l'échelle mondiale

Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (de l'anglais Food and Agriculture Organization of United Nations, FAO), la production mondiale de poisson s'est élevée en 2018 à 179 millions de tonnes ce qui correspondait à une valeur totale de 401 milliards de dollars américains (de l'anglais United States Dollar, USD) (Figure 1-1) [1]. L'aquaculture représentait 46% de la production au niveau mondial ce qui correspondait à un total de 82,1 millions de tonnes de poisson. Selon les estimations de la FAO, la part de l'aquaculture dans la production mondiale serait amenée à croître dans les années à venir. En effet, l'aquaculture permet d'étendre la disponibilité des ressources marines à des populations qui, initialement, n'y avaient pas voire peu accès et ce, souvent à des prix plus faibles permettant alors d'améliorer la nutrition et la sécurité alimentaire [1]. Parallèlement, la production mondiale par capture a atteint un niveau considéré comme record en 2018 avec un total de 96,4 millions de tonnes de poisson pêchées. Ceci correspond à une augmentation de 5,4% par rapport aux trois dernières années. Les sept principaux producteurs à l'échelle mondiale comprennent la Chine, l'Indonésie, le Pérou, l'Inde, la Russie, les Etats-Unis et le Viet Nam. À eux seuls, ces pays ont enregistré près de 50% des captures mondiales [1]. Également, en 2018, les matrices d'origine marine ont figuré parmi les denrées de nature alimentaire les plus échangées à l'échelle mondiale. En effet, 67 millions de tonnes de poisson ont été destinées au commerce international ce qui représente près de 38% des poissons élevés ou capturés dans le monde et correspond à une valeur marchande de 164,1 milliards d'USD. La Chine est non seulement le principal producteur des ressources aquatiques à l'échelle mondiale, mais aussi, depuis 2002, le principal exportateur responsable de 14% des exportations suivi par la Norvège qui enregistre 7% des exportations [1]. Entre les années 1976 et 2018, l'exportation des ressources marines a augmenté d'environ 4%. Toutefois, en raison de l'épidémie mondiale liée à la maladie à coronavirus, une baisse des échanges commerciaux entre les principaux importateurs et exportateurs de poisson est attendue [1]. Environ 78% des produits d'origine marine exportés en 2018 ont été destinés à la consommation humaine. Globalement, en 2018, la majeure partie de la production mondiale de poisson, soit environ 88%, a été utilisée pour la consommation humaine principalement sous forme de poisson vivant, frais ou réfrigéré (44%) tandis que le reste du poisson utilisé à des fins alimentaires l'a été sous forme congelée (35%), sous forme préparée et mise en conserve (11%) ou encore sous forme salée, saumurée, fumée, séchée (10%) [1].

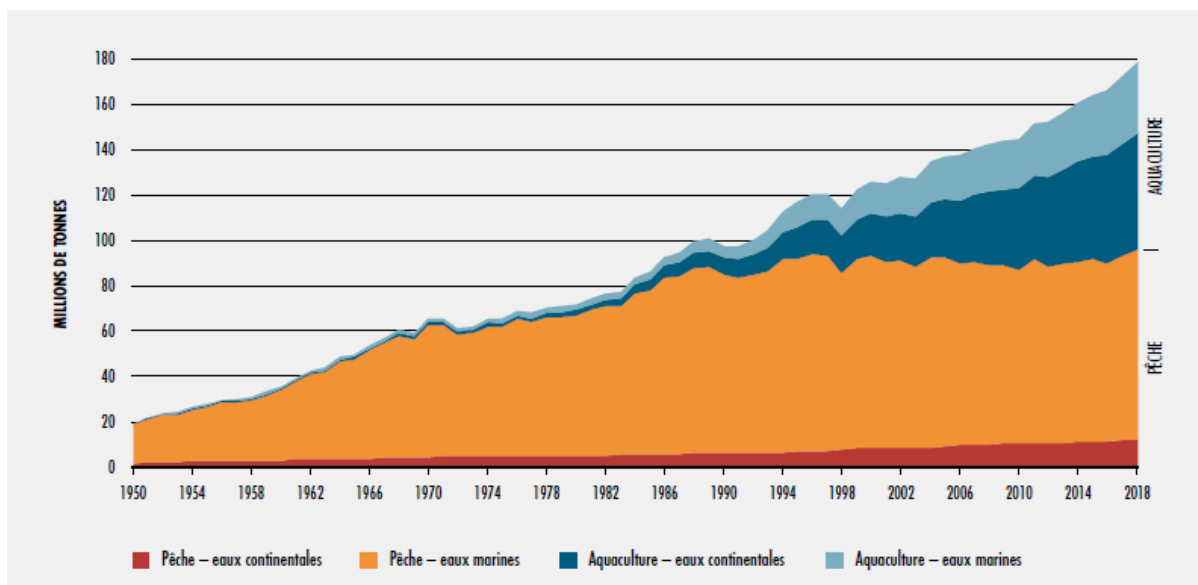


Figure 1-1. Production mondiale liée à la pêche et à l'aquaculture (d'après la FAO [1])

1.1.1.2.2. Production et utilisation à l'échelle du Canada

L'industrie du poisson est un secteur particulièrement dynamique au Canada. Celle-ci englobe trois grandes activités : la pêche commerciale, l'aquaculture et la transformation du poisson. En 2018, la valeur des pêches commerciales a été estimée à 3,1 milliards USD pour un total de 800 000 tonnes de poisson capturées [1,21]. L'aquaculture quant à elle a généré presque 200 000 tonnes de poisson dont la valeur marchande a été estimée à 1,1 milliard USD [21]. Au niveau mondial, le Canada se classe à la 24^e position des principaux pays producteurs [1]. Le Canada est également un acteur majeur des échanges commerciaux internationaux puisque celui-ci a réalisé 3% des exportations au niveau mondial en 2018 se classant ainsi parmi les 10 pays les plus dynamiques à l'échelle internationale [1]. Plus précisément, le Canada a exporté environ 605 000 tonnes de poisson en 2018 ce qui correspond à une valeur commerciale de 5,7 milliards USD [1,21]. Le dynamisme de l'industrie du poisson au Canada rayonne également dans le secteur de l'emploi puisque 76 000 personnes travaillaient dans ce domaine en 2018 [21]. Ainsi, l'industrie du poisson est incontestablement un secteur clef de l'activité économique canadienne. En termes d'utilisation des ressources marines, la majorité est destinée à l'alimentation humaine. À cet effet, ce ne sont pas moins de 9,09 kg de poisson qui ont été consommés par personne au Canada en 2018. La majorité du poisson consommé l'a été sous forme fraîche ou congelée [21].

1.1.1.3. Hareng de l'Atlantique (*Clupea harengus*)

Au Canada, ce ne sont pas moins de 155 444 tonnes qui ont été pêchées au cours de l'année 2018 faisant alors du hareng de l'Atlantique (*Clupea harengus*) l'espèce la plus pêchée du pays pour une valeur commerciale de 52,5 millions USD [21]. Le hareng de l'Atlantique, principalement retrouvé dans la région est de l'océan atlantique et reconnaissable à sa couleur argentée, est un petit poisson pélagique pouvant mesurer jusqu'à 40 cm de long et peser jusqu'à 750 grammes [5,22]. En 2018, le hareng de

l'Atlantique a figuré à la 4^e position des espèces de poisson les plus pêchées à l'échelle mondiale avec un total de 1 820 milliers de tonnes capturées à travers le globe [1]. Plus précisément, au Canada, la pêche du hareng de l'Atlantique est principalement opérée au niveau des côtes situées au sud-ouest de la Nouvelle-Écosse, dans la baie de Fundy, dans le sud du golfe Saint-Laurent ainsi que sur les côtes situées à l'est et à l'ouest de Terre-Neuve-et-Labrador. Plus récemment, la pêche au hareng de l'Atlantique a aussi été développée au niveau de la Basse-Côte-Nord du Québec [22]. Les saisons de pêche du hareng de l'Atlantique au Canada sont généralement le printemps et l'été. Or, comme le hareng de l'Atlantique fraie non seulement à l'automne, mais aussi au printemps, afin de maintenir les stocks de l'espèce, la pêche est notamment interdite au printemps au niveau de la baie de Saint-George et de Port-au-Port [5,22]. Au Canada, une fois capturé, le hareng peut être utilisé pour l'alimentation humaine, mais aussi en tant qu'appât. Lorsque le hareng est utilisé pour l'alimentation humaine, celui-ci peut être consommé frais, mais aussi fumé, congelé, mariné, saumuré ou encore en conserves [22].

1.1.2. Les co-produits issus de l'industrie de transformation du poisson et leur valorisation sous forme d'hydrolysats

1.1.2.1. Les co-produits issus de l'industrie de transformation du poisson

1.1.2.1.1. Contexte général

En raison de la croissance continue de la consommation des produits d'origine marine au cours des dernières années, la quantité de co-produits générés n'a cessé de croître. Les co-produits font référence à l'ensemble des parties du poisson qui ne sont pas retenues pour la consommation humaine suite à une étape de transformation en industrie [2,3]. Les co-produits du poisson comprennent notamment la tête, les viscères, la peau, le squelette mais aussi les œufs des individus femelles et la laitance des individus mâles (Figure 1-2) [3,4,23].

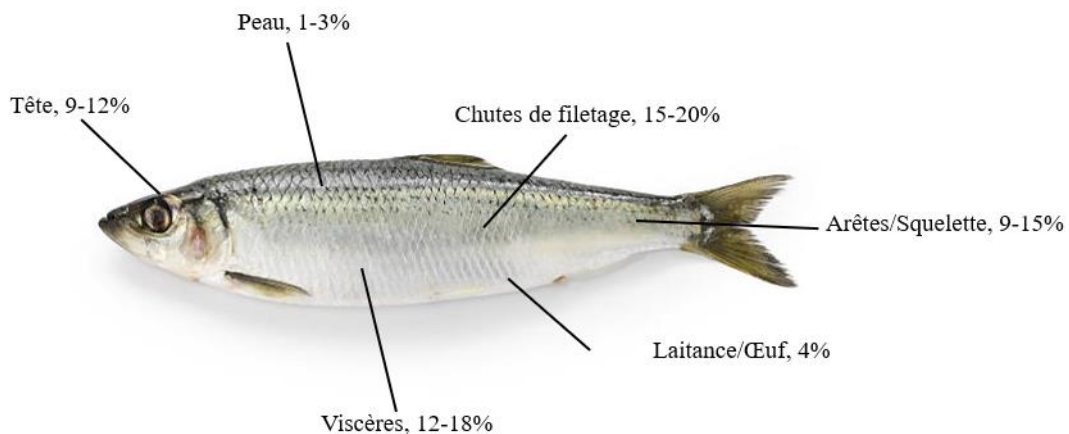


Figure 1-2. Principaux co-produits générés lors de la transformation du poisson et leur pourcentage (d'après Rustad et al. (2011) et Nawaz et al. (2020) [3,23])

Selon l'espèce de poisson concernée et le procédé de transformation appliqué, ces co-produits peuvent représenter jusqu'à 70 voire 80% du poids vif du poisson [4,5]. À l'heure actuelle, il est estimé que seuls 30% des co-produits générés sont valorisés [4]. Les principales voies de valorisation de ces ressources reposent sur leur transformation en huile ou en farine de poisson destinées principalement à l'alimentation des poissons d'aquaculture [1,24]. La production mondiale de poisson s'étant élevée à 179 millions de tonnes en 2018, les pertes liées à la non-utilisation de ces co-produits se sont donc avérées considérables [1]. Or, ces co-produits renferment encore des composés d'intérêt tels que des protéines, des acides gras polyinsaturés oméga-3, des phospholipides, des vitamines ou encore des minéraux qui peuvent être aisément revalorisés dans les secteurs alimentaire, nutraceutique, cosmétique, mais aussi pharmaceutique [4]. Ainsi, afin de satisfaire aux défis liés à une population en perpétuelle croissance et de garantir une utilisation plus éco-responsable des ressources d'origine marine, la mise en place de voies de valorisation durables de ces co-produits et de leurs composés d'intérêt représente aujourd'hui un enjeu crucial [6]. Récemment, la production d'hydrolysats à partir des protéines contenues dans les co-produits de poisson a suscité un intérêt croissant. En effet, cette nouvelle voie de valorisation permet d'accroître tant le potentiel fonctionnel que le potentiel bioactif des protéines natives [4]. À cet effet, cette revue de littérature se concentrera sur la valorisation de ces co-produits sous la forme l'hydrolysats en s'intéressant notamment à leur production ainsi qu'à leur intérêt fonctionnel et biologique.

1.1.2.1.2. Laitance de poisson

Comme il l'a été souligné précédemment, la laitance de poisson figure parmi les co-produits générés par l'industrie de transformation du poisson. La laitance fait référence au fluide correspondant au sperme des poissons mâles sécrété par les glandes génitales lors de la période de fraie. Celle-ci est récupérée lorsque le poisson subit une étape de filetage [24]. En termes de composition, la laitance renferme principalement des lipides, des protéines, de l'acide désoxyribonucléique (ADN) ainsi que des minéraux tels que le potassium, le sodium, le chlore et le calcium [24,25]. Le contenu lipidique de la laitance est riche en acides gras polyinsaturés parmi lesquels figurent l'EPA et le DHA. La majorité de ces acides gras sont présents sous forme de phospholipides [26,27]. Toutefois, il convient de souligner que le contenu lipidique de la laitance de poisson varie en fonction de la saison et un contenu plus conséquent en acides gras est généralement rapporté en période de fraie [26]. En plus des lipides, la laitance de poisson possède également une haute teneur en protéines [24]. À cet effet, la protamine est le principal représentant protéique retrouvé dans la laitance. La protamine est un peptide cationique d'environ 5 kDa dont le point isoélectrique (pI) est situé entre 11 et 13. Ce peptide est composé essentiellement d'arginine qui représente environ 60% de son contenu total en acides aminés. En plus de contenir de l'arginine, la protamine renferme également d'autres acides aminés basiques tels que la lysine et l'histidine [28,29]. La protamine peut également être désignée sous la dénomination de nucléoprotamine puisque celle-ci est capable de se combiner à l'ADN [29]. La clupéine fait référence à

la protamine retrouvée chez le hareng [28,29]. Celle-ci existe sous trois formes : YI, YII et Z possédant néanmoins des séquences peptidiques relativement proches [30–32]. Parmi l'ensemble des co-produits générés en industrie de transformation, la laitance est l'un de ceux ayant le plus grand potentiel en raison de son riche contenu en composés à haute valeur ajoutée justifiant ainsi l'intérêt croissant qui est aujourd'hui apporté à cette ressource surtout lorsqu'elle est transformée en hydrolysats [24].

1.1.2.2. Valorisation des co-produits sous forme d'hydrolysats

1.1.2.2.1. Production d'hydrolysats de co-produits de poisson

La production d'hydrolysats à partir des co-produits issus de l'industrie de transformation du poisson demeure à l'heure actuelle l'issue la plus prometteuse afin de valoriser ces ressources qui pendant longtemps ont été sous-utilisées [4]. Plus précisément, la production de ces hydrolysats repose sur l'hydrolyse des protéines contenues dans ces co-produits afin de les transformer en produits à haute valeur ajoutée. Les protéines représentent encore de 10 à 23% du contenu des co-produits et celles-ci peuvent être classées en trois groupes : les protéines du stroma, les protéines myofibrillaires et les protéines sarcoplasmiques [20].

- Les protéines du stroma : celles-ci occupent une fonction de support et de protection chez les organismes marins et représentent en moyenne 3% des protéines totales. Les protéines du stroma se caractérisent par leur insolubilité dans les solutions à force ionique faible ou modérée et regroupent principalement le collagène, l'élastine et la réticuline [20].
- Les protéines myofibrillaires : ce sont des protéines de structure solubles seulement dans des solutions à forte concentration en sels [20]. Celles-ci représentent entre 66 et 77% des protéines retrouvées chez le poisson. La myosine et l'actine sont les principaux représentants des protéines myofibrillaires intervenant dans la contraction du muscle [6,20]. En effet, la myosine compte pour environ 50 à 60% des protéines myofibrillaires tandis que l'actine représente entre 15 et 30% de ces protéines [6].
- Les protéines sarcoplasmiques : ce sont des protéines solubles dans l'eau ou dans les solutions à force ionique faible présentes au niveau du sarcoplasme. Celles-ci représentent entre 15 et 35% des protéines retrouvées chez le poisson. Parmi ces protéines sont retrouvées la myoglobine ou encore des enzymes associées à la production d'énergie telles que la créatine kinase et l'aldolase [20].

L'hydrolyse de ces protéines peut être réalisée selon trois méthodes : la fermentation microbienne, l'hydrolyse chimique et l'hydrolyse enzymatique. Indépendamment de la méthode employée, l'hydrolyse des protéines permet de conduire à la formation de peptides et d'acides aminés. Les peptides formés peuvent avoir des activités biologiques et, dans ce cas, ces derniers sont désignés sous le terme de peptides bioactifs. Plus spécifiquement, un peptide bioactif est un composé de faible poids

moléculaire possédant une séquence comprise entre 2 et 20 acides aminés. Lorsqu'il est présent au sein de la chaîne protéique native, le peptide bioactif n'est pas actif. Afin que son activité puisse être exercée, celui-ci doit être relargué par une étape d'hydrolyse [20].

1.1.2.2.1.1. Fermentation microbienne

La fermentation microbienne a longtemps été utilisée à des fins de conservation des aliments. Néanmoins, celle-ci peut également être une voie de production d'hydrolysats. Dans ce cas, les protéines sont hydrolysées par les enzymes protéolytiques endogènes des microorganismes. Les microorganismes impliqués peuvent être des bactéries, principalement des bactéries lactiques, des moisissures et des levures [2]. La nature des hydrolysats produits ainsi que leurs propriétés fonctionnelles et bioactives dépendent principalement du microorganisme utilisé et, plus précisément, de son bagage enzymatique. Par exemple, Fang *et al.* (2017) ont constaté qu'un hydrolysats de peau de turbot produit par fermentation avec *Aspergillus oryzae* présentait une meilleure capacité de piégeages de radicaux libres comparativement aux hydrolysats produits par fermentation avec *Saccharomyces cerevisiae* et *Streptococcus thermophilus* [33]. Toutefois, bien que la production d'hydrolysats par fermentation microbienne présente des avantages puisqu'il s'agit d'un procédé vert ne nécessitant aucun apport de substance chimique et peu dispendieux, certains inconvénients limitent toutefois son utilisation massive [33]. En effet, l'hydrolyse par fermentation microbienne suppose en premier lieu de cultiver des microorganismes ce qui peut s'avérer contraignant. De plus, cette méthode offre peu de contrôle des paramètres d'hydrolyse. Finalement, le recours à la fermentation microbienne afin de valoriser les co-produits issus de l'industrie de transformation du poisson semble davantage utilisée à des fins de production de sauces de poisson plutôt que pour la production d'hydrolysats possédant des propriétés fonctionnelles et biologiques définies [2].

1.1.2.2.1.2. Hydrolyse chimique

L'hydrolyse chimique repose sur le recours à des espèces chimiques de nature acide ou basique afin de cliver les liens peptidiques. La production d'hydrolysats par voie chimique a longtemps été la méthode la plus privilégiée en industrie en raison de sa simplicité de mise en œuvre et de son caractère peu dispendieux [6].

A) Hydrolyse acide

L'hydrolyse acide est la méthode d'hydrolyse chimique la plus employée. Plus précisément, l'hydrolyse acide des protéines de poisson est généralement conduite avec de l'acide chlorhydrique (HCl) ou dans certains cas avec de l'acide sulfurique (H₂SO₄), et ce, sous de hautes valeurs de température voire de pression [4,6]. Dans le cadre d'une hydrolyse acide, le degré d'hydrolyse atteint est généralement conséquent. À cet effet, la principale application de ce type d'hydrolysats est basée sur

leur haute solubilité [6]. Bien que cette méthode demeure relativement simple à mettre en œuvre et relativement abordable en termes de coût, différents inconvénients peuvent être soulignés [4,6]. En effet, après l'étape d'hydrolyse, le pH de l'hydrolysats produit est ramené à la neutralité. Ainsi, l'hydrolysats après l'étape de neutralisation comporte généralement une haute teneur en sels ce qui peut interférer avec une applicabilité optimale de ce dernier [6]. Afin de pallier ce biais, l'hydrolyse acide peut être couplée à un procédé de déminéralisation basé sur le recours à des procédés membranaires ou à des résines échangeuses d'ions [4]. Toutefois, ceci peut rapidement venir alourdir le procédé de production d'hydrolysats ainsi que les coûts générés. Un autre inconvénient majeur de l'hydrolyse acide repose sur la destruction d'acides aminés essentiels tels que le tryptophane ou la méthionine mais aussi sur la conversion de l'asparagine et de la glutamine en acide aspartique et en acide glutamique respectivement. Ceci résulte donc en la production d'hydrolysats aux qualités nutritionnelles et fonctionnelles limitées [4,6]. Aussi, l'hydrolyse acide étant un procédé difficilement contrôlable, les hydrolysats qui en résultent présentent généralement des compositions et des propriétés fonctionnelles variables [6]. Finalement, le recours à des espèces chimiques peut représenter un frein surtout dans le contexte actuel où de nombreux efforts sont apportés afin d'adopter des comportements plus éco-responsables. À l'heure actuelle, l'hydrolyse acide est principalement utilisée afin de convertir les co-produits de poisson en produits à faible valeur ajoutée tels que l'engrais [4,6].

B) Hydrolyse basique

L'hydrolyse basique repose sur le recours à une base telle que l'hydroxyde de sodium (NaOH) afin de cliver les liaisons peptidiques. Même si l'utilisation de l'hydrolyse basique est moins fréquente que celle de l'hydrolyse acide, celle-ci demeure tout de même conduite en industrie. L'hydrolyse basique des protéines de poisson est principalement appliquée aux concentrés protéiques. Au cours de l'hydrolyse basique des protéines, un rapide clivage des chaînes polypeptidiques se produit suivi par une dégradation plus lente. Un tel procédé permet d'accroître la solubilité des concentrés protéiques d'origine marine [6]. Toutefois, de la même manière que pour l'hydrolyse en conditions acides, certains inconvénients accompagnent également l'hydrolyse en conditions basiques. En effet, en plus d'être un procédé difficilement contrôlable, l'hydrolyse basique conduit elle aussi à la production d'hydrolysats dont les propriétés fonctionnelles et la valeur nutritionnelle sont amoindries. Ceci peut être relié au fait que l'hydrolyse basique peut conduire à des réactions délétères comme notamment la racémisation des L-acides aminés en D-acides aminés non absorbables par l'organisme humain ou encore la perte de la cystéine, de la sérine ou de la thréonine via des réactions de β -élimination [4,6]. Finalement, tel qu'il l'a été souligné pour l'hydrolyse acide, l'hydrolyse basique implique elle aussi le recours à des espèces chimiques ce qui va à l'encontre des efforts entrepris afin de promouvoir les procédés plus respectueux de l'environnement.

1.1.2.2.1.3. Hydrolyse enzymatique

Contrairement aux méthodes chimiques, l'hydrolyse enzymatique présente l'avantage d'être facilement contrôlable tout en étant plus spécifique dans le clivage des liaisons peptidiques. L'hydrolyse par voie enzymatique représente à l'heure actuelle l'option la plus favorable afin de produire des hydrolysats aux propriétés nutritionnelles et bioactives optimales. Plus précisément, dans le cas de l'hydrolyse enzymatique, les liens peptidiques sont clivés par des enzymes qui œuvrent en tant que catalyseurs de réaction. Les enzymes sont spécifiques à un substrat et ne peuvent catalyser qu'un seul type de réaction [6]. Les enzymes employées afin de produire des hydrolysats peuvent être de nature endogène ou exogène. D'une part, les enzymes dites endogènes font référence aux enzymes naturellement présentes dans le poisson. À cet effet, le muscle, les viscères et le tractus gastro-intestinal sont les parties du poisson les plus riches en enzymes. D'autre part, les enzymes dites exogènes proviennent d'une source extérieure et sont simplement ajoutées à la matière première destinée à être hydrolysée [6]. Toutefois, qu'elles soient de nature endogène ou exogène, les enzymes responsables du clivage des liaisons peptidiques sont des protéases. Les protéases exogènes peuvent provenir de source animale (pepsine, trypsine, chymotrypsine), végétale (papaïne, bromélaïne) ou microbienne (Neutrase®, Alcalase®, Flavourzyme®, Protamex™) et, peuvent être employées de manière individuelle ou en mélange [34,35]. En outre, les protéases sont distinguées selon leur mécanisme d'hydrolyse en endopeptidases et en exopeptidases. Les endopeptidases clivent la liaison peptidique à l'intérieur de la protéine, généralement au niveau de résidus spécifiques. À l'inverse, les exopeptidases éliminent les acides aminés soit à partir de l'extrémité N-terminale (aminopeptidase) soit à partir de l'extrémité C-terminale (carboxypeptidase) (Figure 1-3). Dans le cas des endopeptidases, des peptides de différents poids moléculaires sont libérés tandis que les exopeptidases libèrent principalement des acides aminés libres [6,34]. De manière générale, les endopeptidases demeurent davantage utilisées que les exopeptidases dans la production d'hydrolysats. Toutefois, lorsqu'un haut degré d'hydrolyse est visé, l'action des endopeptidases peut être complétée par le recours à des exopeptidases [6]. Différents paramètres influencent la composition de l'hydrolysats final et, par voie de conséquence, ses propriétés fonctionnelles et bioactives. Parmi ces paramètres figurent l'enzyme utilisée ainsi que les paramètres de réaction tels que le pH, la température, le temps de réaction ou encore le rapport enzyme/substrat [6,35]. Par exemple, Elavarasan *et al.* (2014) ont constaté qu'un hydrolysats de protéines de *Catla catla*, poisson conventionnellement retrouvé sur le continent asiatique, produit à partir de bromélaïne présentait des capacités antioxydante et moussante ainsi qu'un pouvoir de stabilisation d'émulsion supérieurs aux hydrolysats produits à partir d'autres enzymes telles que l'Alcalase® ou de mélanges d'enzymes tels que la Flavourzyme® et la Protamex™ [36]. Idowu *et al.* (2019) ont produit des hydrolysats de saumon à partir de deux enzymes (Alcalase® et papaïne) et ont ainsi mis en avant les liens qui existent entre l'enzyme utilisée et sa concentration, le temps de réaction, le degré d'hydrolyse et le potentiel antioxydant de l'hydrolysats final. À cet effet, il a pu être démontré que le degré d'hydrolyse augmentait

en fonction du temps et de la concentration en enzyme. De plus, les hydrolysats produits à partir de papaïne démontraient une capacité d'absorption des radicaux oxygénés supérieure à celle des hydrolysats produits à partir d'Alcalase® [37]. Ainsi, le recours à l'hydrolyse enzymatique implique généralement une étape d'optimisation afin de produire des hydrolysats aux propriétés désirées. Finalement, en fin de réaction, il est nécessaire d'inactiver l'enzyme. Ceci peut se faire par variation du pH, par traitement thermique ou bien par ultrafiltration [6]. Ainsi, bien que la production d'hydrolysats à partir d'enzyme représente un certain coût en plus de nécessiter une étape d'optimisation, ce procédé a su gagner, de nos jours, une attention particulière notamment pour son caractère respectueux de l'environnement et la qualité des hydrolysats produits. À cet effet, la valorisation des co-produits issus de l'industrie de transformation du poisson repose principalement sur leur transformation en hydrolysats en ayant recours à une hydrolyse enzymatique.

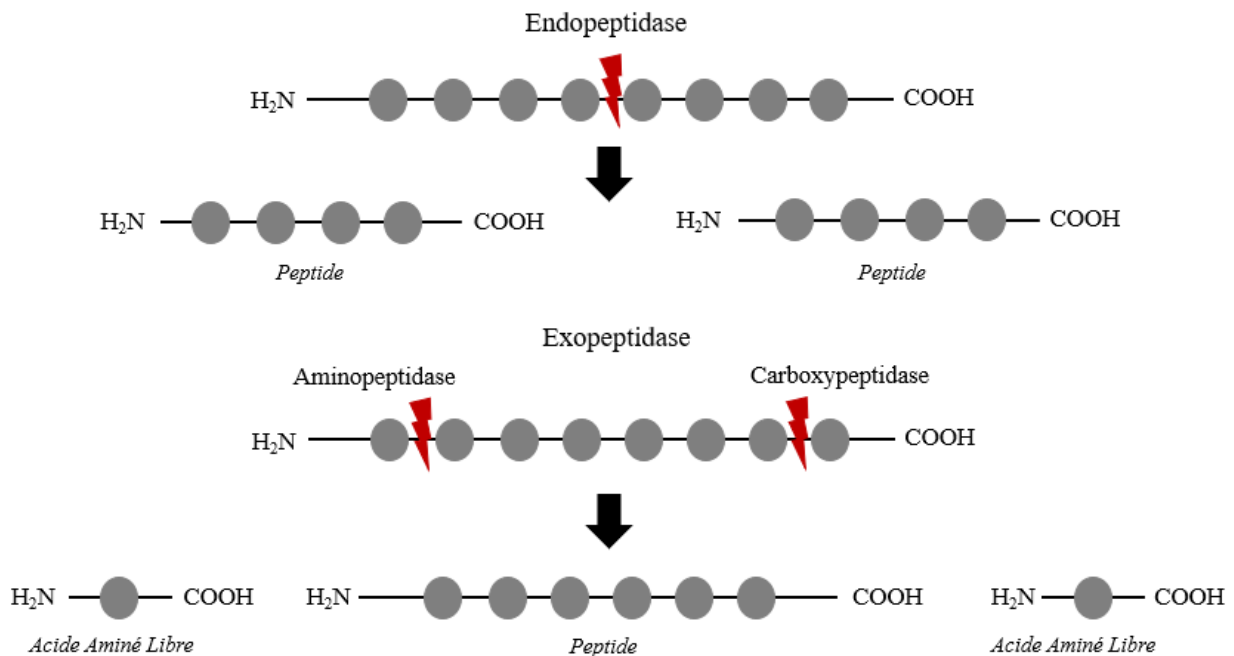


Figure 1-3. Mécanisme d'action des protéases

1.1.2.2.2. Intérêt fonctionnel et bioactif des hydrolysats de co-produits de poisson

Tel qu'il l'a été souligné dans les paragraphes qui précèdent, la transformation des co-produits issus de l'industrie de transformation de poisson en hydrolysats permet de produire des ressources possédant un important potentiel en termes de fonctionnalités et de bioactivités. Ainsi, les propriétés fonctionnelles et bioactives rapportées couvrent une vaste gamme. D'une part, en ce qui a trait aux propriétés fonctionnelles, les principales ayant déjà été rapportées sont des propriétés moussante, émulsifiante, de rétention d'eau, d'adsorption de la matière grasse et de solubilité [6,38,39]. D'autre

part, les principales propriétés biologiques rapportées font référence à des activités antioxydante, anticancer, anti-diabète, antimicrobienne, anti-inflammatoire ou encore antihypertensive [40–45]. La figure 1-4 résume les principales propriétés fonctionnelles et biologiques des hydrolysats de co-produits de poisson.

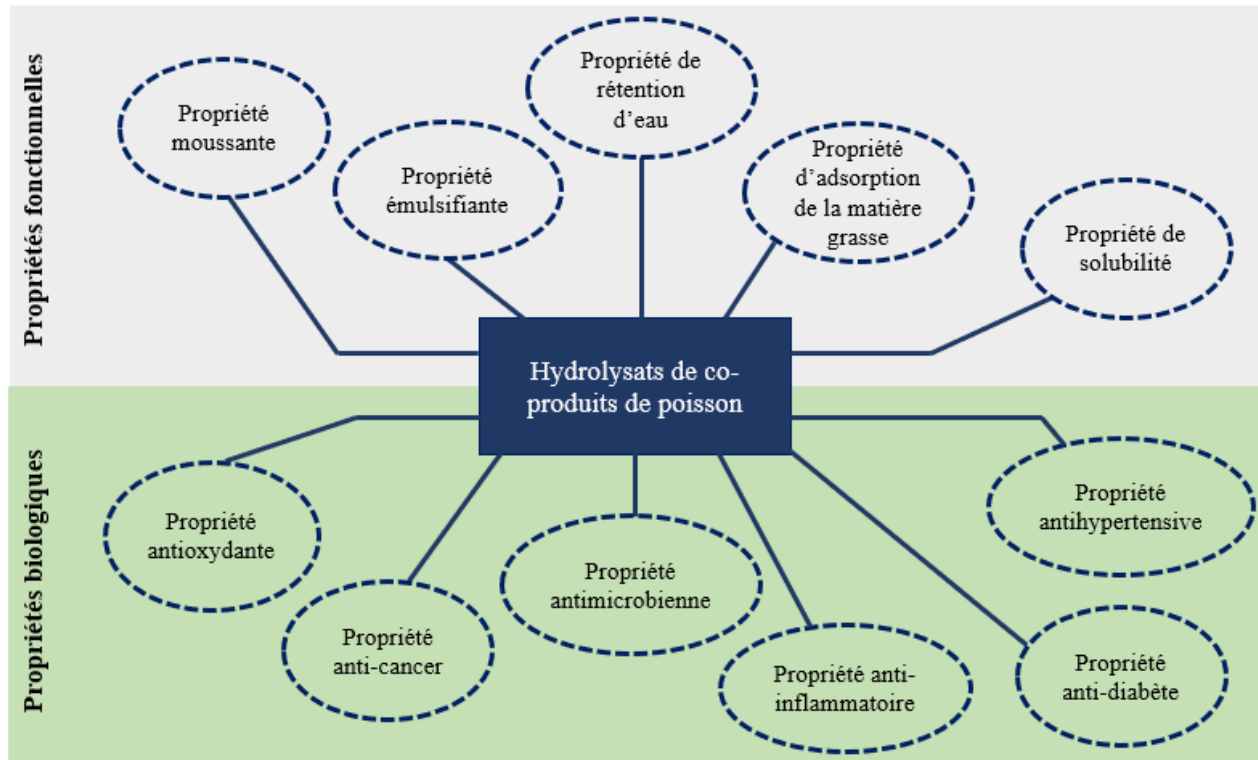


Figure 1-4. Résumé des principales propriétés fonctionnelles et biologiques des hydrolysats de co-produits de poisson

Dans la mesure où ce projet de doctorat cible un hydrolysat de laitance de hareng, les prochains paragraphes se consacreront aux propriétés des hydrolysats de hareng de l'Atlantique en général ainsi qu'à celles des hydrolysats de laitance de hareng rapportées jusqu'à présent.

1.1.2.2.2.1. Hydrolysats de hareng de l'Atlantique (*Clupea harengus*)

Le hareng de l'Atlantique (*Clupea harengus*) est un poisson possédant un contenu important en acides gras polyinsaturés oméga-3. À cet effet, celui-ci a longtemps été utilisé à des fins de production d'huile principalement [46]. Toutefois, outre son contenu lipidique d'intérêt, le hareng ainsi que ses co-produits renferment également des protéines dont l'hydrolyse permet d'accroître leur potentiel et, par voie de conséquence, leur champ d'application. Les propriétés fonctionnelles et biologiques de divers hydrolysats de hareng de l'Atlantique sont résumées dans le tableau 1-1. Par exemple, il a déjà pu être rapporté que des hydrolysats de hareng produits à partir de diverses parties de ce poisson (poisson entier, corps, tête) possédaient des propriétés moussante, émulsifiante et d'adsorption de la matière grasse [47–49]. Ainsi, Sathivel *et al.* (2003) [48] ont démontré que les hydrolysats de hareng produits avaient une capacité d'adsorption de la matière grasse équivalente à celle de l'albumine de l'œuf tandis que Sathivel

et al. (2004) [49] ont constaté que ces hydrolysats présentaient une capacité émulsifiante équivalente si ce n'est supérieure à celle d'un concentré protéique de soja. L'œuf et le soja étant des ressources de référence largement employées dans l'industrie agroalimentaire de par leur haut intérêt fonctionnel, ces études semblent ainsi démontrer le potentiel que pourraient également avoir ces hydrolysats de hareng. Qui plus est, Hoyle & Merritt (1994) ont démontré non seulement le haut intérêt nutritionnel d'un hydrolysats produit à partir de muscle de hareng, mais aussi sa capacité de solubilité [50]. Beaulieu *et al.* (2009) ont également mis en avant le haut intérêt nutritionnel d'un hydrolysats de hareng produit à partir du poisson entier en raison de son contenu équilibré en acides aminés notamment ceux considérés comme essentiels [51]. Aussi, il a déjà pu être constaté qu'un hydrolysats de hareng produit à partir du poisson entier pouvait servir de source de peptones pour milieu de culture bactérien [52]. Outre ces propriétés fonctionnelles, les hydrolysats produits à partir de hareng possèdent un important potentiel bioactif démontré tant *in vitro* qu'*in vivo*. En effet, Šližytė *et al.* (2014) ont démontré que des hydrolysats produits à partir d'un mélange de co-produits de hareng (squelette, peau, tête et viscères) possédaient non seulement un haut intérêt nutritionnel, mais aussi des propriétés antioxydantes. En effet, ces hydrolysats ont permis une réduction de l'oxydation induite par le Fe^{3+} et par l'hémoglobine entre 50 et 70% et entre 70 et 80% respectivement [46]. Quant à eux, Pilon *et al.* (2011) ont mis en avant le potentiel anti-inflammatoire d'un hydrolysats de hareng. Plus précisément dans cette étude, une diminution de la production d'interleukines 6 (IL-6) et du facteur de nécrose tumorale α (de l'anglais tumor necrosis factor α , TNF α) a été constatée au niveau du tissu adipeux de rats Wistar nourris avec une diète riche en sucres et en gras dont la fraction protéique comprenait l'hydrolysats de hareng produit à partir du poisson entier [53]. Sur un autre modèle de rats obèses, les rats Zucker fa/fa, les études de Drotningvik *et al.* (2016 ; 2018) ont démontré les effets bénéfiques que pouvait exercer un hydrolysats produit à partir d'un mélange de co-produits de hareng (tête, viscères et squelette) sur le syndrome métabolique. En effet, un tel hydrolysats permettait de réduire le taux de cholestérol, d'inhiber l'enzyme de conversion de l'angiotensine (de l'anglais angiotensin converting enzyme, ACE), de protéger la fonction rénale et de réguler le taux de glucose [54,55]. Finalement, Pampanin *et al.* (2012) ont détecté dans des hydrolysats produits respectivement à partir de peau et d'un mélange de divers co-produits de hareng des peptides déjà connus des bases de données pour être des peptides antimicrobiens, antioxydants, immunomodulateurs, protecteurs du système cardiovasculaire, agonistes et antagonistes des opioïdes, cytomodulateurs et activateurs de la contraction de l'iléon [56].

Tableau 1-1. Propriétés fonctionnelles et biologiques des hydrolysats de hareng de l'Atlantique (*Clupea harengus*)

Partie de l'organisme hydrolysée	Propriétés fonctionnelles/biologiques	Sources
Poisson entier	Moussante, émulsifiante	[47]
Poisson entier, corps sans la tête, tête	Adsorption de la matière grasse, antioxydante	[48]
Poisson entier, corps sans la tête, tête	Emulsifiante, adsorption de la matière grasse	[49]
Muscle	Solubilité, intérêt nutritionnel	[50]
Poisson entier	Intérêt nutritionnel	[51]
Poisson entier	Source de peptones pour milieu de culture bactérien	[52]
Mélange squelette, peau, tête et viscères	Intérêt nutritionnel, antioxydante	[46]
Poisson entier	Anti-inflammatoire	[53]
Mélange tête, viscères et squelette	Hypocholestérolémiant	[54]
Mélange tête, viscères et squelette	Inhibition de l'ACE, protection de la fonction rénale, régulation du glucose	[55]

1.1.2.2.2.2. Hydrolysats de laitance de hareng

Ce n'est que très récemment que la valorisation de la laitance de hareng sous forme d'hydrolysats a été considérée. À ce propos, il a déjà pu être rapporté que ces hydrolysats présentaient un important intérêt biologique. Par exemple, dans leur étude Wang *et al.* (2019) ont étudié l'effet d'un hydrolysate de laitance de hareng sur la fonction de l'insuline et sur le métabolisme du glucose en ayant recours à un modèle de souris C57BL/6J mâles dont l'obésité a été induite par un régime riche en gras. Une amélioration considérable de la sensibilité à l'insuline et de l'homéostasie du glucose a été constatée chez ces souris lorsque ces dernières recevaient une diète dont 70% des caséines étaient remplacées par une quantité équivalente de protéines provenant d'un hydrolysate de laitance de hareng. Plus précisément, par rapport à des souris nourries avec une diète riche en gras, une diète comprenant un hydrolysate de laitance de hareng a permis de réduire le gain de poids, la glycémie à jeun ainsi que les taux d'insuline, de leptine (hormone contrôlant la satiété) et de cholestérol à jeun [10]. Ultérieurement, Wang *et al.* (2020) ont confirmé sur le même modèle animal qu'une telle diète permettait définitivement d'améliorer la sensibilité à l'insuline et la fonction des cellules β du pancréas. Ces cellules β ont pour rôle principal de synthétiser et de sécréter de l'insuline afin de maintenir le taux de glucose circulant dans les limites physiologiques [11]. Durand *et al.* (2019) ont également rapporté dans leur étude l'effet bénéfique d'un

hydrolysats de laitance de hareng sur le métabolisme du glucose. Dans ce cas, une amélioration de la captation du glucose a été démontrée *in vitro* sur des cellules de myocytes L6 (cellules musculaires squelettiques) lorsque celles-ci ont été traitées avec un hydrolysats de laitance de hareng fractionné par électrodialyse avec membranes d'ultrafiltration (EDUF). Dans cette même étude, une fraction provenant de l'hydrolysats de laitance de hareng après fractionnement possédait également un potentiel antioxydant *in vitro* [7]. Dans une autre étude, Durand *et al.* (2020a) ont également mis en avant le potentiel antioxydant d'un hydrolysats de laitance de hareng *in vitro* et ont aussi démontré *in vitro* l'effet anti-inflammatoire de fractions d'hydrolysats de laitance de hareng obtenues après fractionnement de l'hydrolysats initial par EDUF sur un modèle de macrophages J774 de souris [8]. Également, Durand *et al.* (2020b) ont testé l'effet de différents hydrolysats de laitance de hareng sur des modèles cellulaires et animal. Au regard du modèle animal, l'effet d'une diète contenant ces hydrolysats sur des souris mâles C57BL/6J obèses a été étudié. Il a alors été démontré que ces hydrolysats permettaient de réduire les altérations inflammatoires et métaboliques *in vitro* et *in vivo*. Notamment, *in vivo*, ceci permettait de réduire la glycémie et de prévenir la diminution de la population de *Lactobacillus* au niveau du microbiote intestinal. Ceci est particulièrement intéressant puisque différentes espèces de *Lactobacillus* ont déjà démontré leur pertinence à être employées en tant que probiotiques puisque celles-ci auraient des effets bénéfiques sur la santé incluant la réduction du tissu adipeux et de la masse corporelle, l'amélioration de la sensibilité à l'insuline et la prévention de la dyslipidémie. Également, une régulation à la hausse de l'expression des gènes au niveau du foie tel que celui de la kinase liée au saccharose non fermenté a aussi été rapportée. Cette voie serait impliquée dans le transport du glucose non lié à l'insuline. *In vitro*, les hydrolysats de laitance de hareng ont démontré un effet anti-inflammatoire par l'inhibition de l'oxyde nitrique synthase inductible sur un modèle de macrophages J774 [9]. Ainsi, définitivement, les hydrolysats produits à partir de laitance de hareng présentent un réel intérêt en raison de leur potentiel bioactif. Ces derniers pourraient donc aisément être considérés comme de précieux alliés à des fins d'amélioration de la santé humaine notamment dans la prévention du syndrome métabolique caractérisé par la présence de plusieurs facteurs de risque tels que la résistance à l'insuline, l'obésité viscérale, l'hypertension ou encore la dyslipidémie.

1.1.2.3. Limites de valorisation des co-produits sous forme d'hydrolysats

La production d'hydrolysats à partir des co-produits issus de l'industrie de transformation du poisson représente incontestablement une avenue d'intérêt afin de procéder à leur valorisation et d'aboutir à des produits finaux ayant une haute valeur ajoutée. Toutefois, certaines limites peuvent être mentionnées. L'une des principales limites pouvant être soulignée fait référence aux odeurs que renferment les hydrolysats produits à partir des co-produits issus de l'industrie de transformation du poisson. En effet, ces derniers étant issus de matières premières d'origine marine, leur perception olfactive est généralement associée à l'odeur du poisson pouvant alors être perçue comme déplaisante [12]. Dans la mesure où les propriétés biologiques de ces hydrolysats les destineraient à être utilisés en

tant qu'ingrédient dans des produits tant alimentaires, nutraceutiques, cosmétiques ou encore pharmaceutiques, l'aspect sensoriel demeure un critère indispensable pour leur acceptation auprès des consommateurs [12]. En effet, parmi les différents attributs sensoriels des produits, il est estimé que l'odeur est la composante ayant la plus forte influence sur les consommateurs et leur intention d'achat [57]. Bien que d'autres limites peuvent également être mises en avant comme le coût que représente la production d'hydrolysats ou encore le manque de connaissances concernant leur compatibilité à être intégrés dans un procédé industriel, la suite de cette revue bibliographique portera sur la limite principale des hydrolysats d'origine marine, en l'occurrence sur leur odeur [35,58]. À cet effet, un intérêt particulier sera porté aux composés volatils qui sont les composés responsables de l'odeur.

1.2. Les composés volatils et leur contribution à l'odeur

1.2.1. Définition et considérations générales

L'odeur d'une matrice résulte de la contribution de composés volatils. Ces derniers sont des molécules organiques de faible masse moléculaire, généralement inférieure à 400 Da, appartenant aux différents groupes de la chimie organique parmi lesquels figurent notamment des aldéhydes, cétones, alcools, acides carboxyliques, amines ou encore des composés soufrés. Les composés volatils présentent, à pression atmosphérique et à température ambiante, une tension de vapeur suffisamment élevée pour qu'une fraction se retrouve à l'état gazeux dans l'atmosphère et puisse alors provoquer un stimulus au niveau de l'épithélium olfactif responsable de la perception olfactive [59].

Différents mécanismes ont été identifiés à ce jour comme étant responsables de la formation de composés volatils. Parmi ces mécanismes, l'oxydation des lipides retrouvés dans les matrices d'origine marine par voies enzymatique et non-enzymatique est décrite comme étant l'un des mécanismes principaux de la génération de composés volatils résultant principalement en la formation de carbonyles, d'acides carboxyliques et d'alcools [60]. En effet, les matrices d'origine marine étant particulièrement riches en acides gras polyinsaturés de type oméga-3, ces dernières sont particulièrement sensibles aux phénomènes d'oxydation et, par voie de conséquence, particulièrement propices à la formation de composés volatils [61]. Outre la dégradation des lipides par voie oxydative, la dégradation des acides aminés est également un mécanisme connu pour générer des composés volatils. À cet effet, la formation d'aldéhydes peut non seulement résulter de l'oxydation de lipides, mais aussi de la dégradation de Strecker impliquant la réaction entre un composé dicarbonylé et un acide aminé [60,62]. Qui plus est, les microorganismes peuvent aussi être responsables de la formation de composés volatils. Dans ce cas, leur contribution peut être favorable ou non à l'odeur d'une matrice. En effet, dans le cadre d'un procédé de fermentation par exemple, des microorganismes sont spécifiquement sélectionnés afin de produire des composés volatils d'intérêt. A contrario, la présence de certains composés volatils peut aussi être directement reliée à l'état de détérioration d'une matrice et peut même être employée en tant

qu'indicateur de l'état de fraîcheur de la matrice d'intérêt [63–66]. Aussi, la présence de certains composés volatils au sein des matrices marines peut être directement reliée à leur transfert depuis le milieu dans lequel les espèces marines ont évolué ou bien résulter de leur diète [67].

Les prochains paragraphes s'intéresseront au mécanisme de la perception olfactive ainsi qu'aux méthodes permettant l'analyse des composés volatils.

1.2.2. Mécanisme de la perception olfactive

L'odeur d'une matrice est perçue au niveau de récepteurs olfactifs présents dans la cavité nasale. La voie mise en jeu dans ce cas est une voie directe connue également sous le nom de voie orthonasale. Celle-ci est à distinguer de la voie indirecte, également nommée voie rétronasale, impliquant ici une mise en bouche du produit d'intérêt au cours de laquelle se produit une libération des composés volatils depuis la cavité buccale (Figure 1-5) [68,69]. Dans le cadre de ce projet de doctorat, seule la perception par la voie orthonasale est considérée.

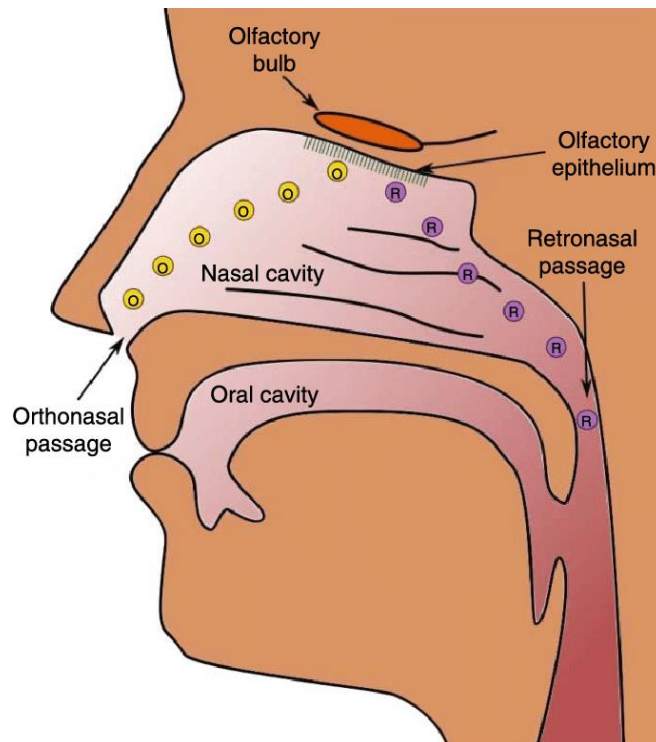


Figure 1-5. Représentation schématique du système olfactif humain. Les composés volatils représentés par la lettre "O" empruntent la voie orthonasale tandis que les composés volatils représentés par la lettre "R" empruntent la voie rétronasale (tiré de Dietrich (2009) [69])

Brièvement, la perception olfactive des composés volatils est régie par une cascade d'évènements. Lorsque les composés volatils pénètrent dans la cavité nasale, ces derniers se retrouvent piégés dans le mucus qui y est présent. Ils vont ensuite diffuser au travers de ce mucus selon leur affinité pour celui-ci. Le mucus étant essentiellement constitué d'eau, la diffusion des composés volatils va alors être gouvernée par leur hydrophobicité [70]. Par conséquent, un composé hautement hydrophobe diffusera plus rapidement puisque celui-ci aura beaucoup moins d'affinité pour le mucus. Outre ce phénomène de

diffusion, les composés volatils peuvent également être pris en charge à ce niveau par des molécules de transport connues sous le nom de protéines liant les odeurs (de l'anglais Odorant Binding Proteins, OBP) [71]. Les composés volatils vont ensuite être détectés par des neurones olfactifs. Ces neurones possèdent à leurs extrémités des protéines transmembranaires jouant le rôle de récepteurs olfactifs. La complexation des composés volatils avec ces récepteurs va provoquer un changement quant à leur conformation. Ceci va être responsable de la dépolarisation des neurones olfactifs et de la naissance d'un message nerveux qui sera transmis au niveau du bulbe olfactif puis au système nerveux central. Le cerveau traite ensuite l'information qui lui est transmise ce qui conduira à l'interprétation de l'odeur perçue [70].

1.2.3. Méthodes d'analyse des composés volatils

Les paragraphes qui suivent se proposent de développer les méthodes d'analyse des composés volatils. Pour ce faire, toute démarche analytique relative à ces composés débute par une étape d'extraction de ces derniers depuis la matrice dans laquelle ils sont présents.

1.2.3.1. Extraction des composés volatils

1.2.3.1.1. Généralités

L'extraction est une étape cruciale dans l'analyse des composés volatils. Celle-ci doit être efficace et appropriée à la matrice étudiée afin d'extraire des composés de différentes structures et de différentes polarités tout en évitant les contaminations et les réactions physico-chimiques (dégradation thermique, oxydation, hydrolyse) ou la perte excessive de certains composés [72,73]. Le choix de la méthode d'extraction se fait en fonction de la finalité recherchée. En effet, dans le cadre d'une caractérisation générale, l'extraction devra être peu sélective afin d'obtenir un extrait le plus représentatif possible de la matrice initiale. A contrario, si certains composés volatils sont ciblés, la méthode d'extraction choisie devra être plus spécifique et, dans ce cas, l'extrait obtenu ne sera pas représentatif de la matrice initiale. Les méthodes d'extraction les plus couramment employées de nos jours sont présentées dans les paragraphes qui suivent [73].

1.2.3.1.2. Méthodes d'extraction au solvant

1.2.3.1.2.1. Extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide (de l'anglais Liquid-Liquid Extraction, LLE) est une méthode de référence pour l'extraction des composés volatils. Celle-ci repose sur la différence d'affinité des composés volatils entre une phase organique constituée de solvant tel que le méthanol, l'éthanol, l'hexane, le chloroforme ou encore le chlorure de méthylène et une phase aqueuse (Figure 1-6). La sélection du solvant dépend de la polarité des composés volatils que l'on souhaite extraire. Par exemple,

pour l'extraction de composés volatils polaires, l'extraction est généralement conduite avec des mélanges eau-méthanol ou eau-éthanol. Pour les composés non solubles, des étapes subséquentes de centrifugation ou de décantation peuvent être menées. De plus, pour de tels composés, les solvants généralement employés sont du chloroforme ou de l'hexane. Afin de finaliser l'extraction des composés volatils, une étape de concentration est opérée avec un évaporateur rotatif sous vide. Le temps et la température d'extraction sont des paramètres essentiels. Afin d'éviter la recombinaison des molécules résultant d'une dégradation thermique, il est conseillé de procéder à l'extraction à température pièce. Toutefois, ceci n'est pas toujours possible en raison du fait que de hautes températures sont parfois nécessaires afin d'inactiver les enzymes présentes dans l'échantillon. Dans ce cas, d'autres méthodes d'extraction sont à envisager.

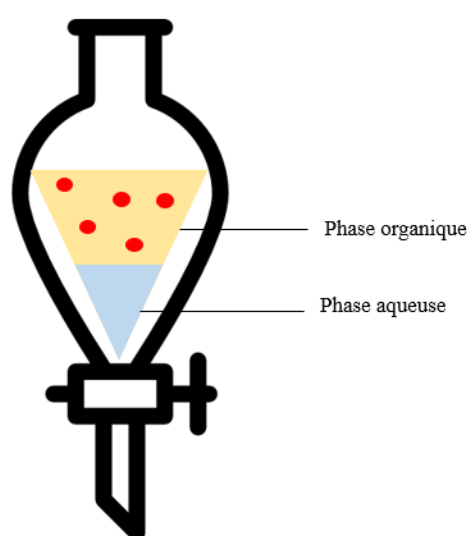


Figure 1-6. Représentation schématique du procédé de LLE. Les composés volatils récupérés dans la phase organique sont représentés en rouge

Bien que cette méthode demeure relativement appréciée pour l'extraction des composés volatils, certains inconvénients sont à souligner tels que l'utilisation d'un large volume de solvants organiques ou encore un faible taux de récupération des composés volatils puisque la performance de cette méthode repose essentiellement sur l'affinité de ces composés pour le solvant d'extraction. De ce fait, dans un tel contexte, il est recommandé d'avoir recours à plusieurs solvants [74]. Il convient également de souligner que la LLE peut aussi être utilisée en tant que méthode de désodorisation en raison de son potentiel à extraire les composés volatils. Cet aspect sera davantage développé ultérieurement dans cette revue de littérature.

1.2.3.1.2.2. Distillation à la vapeur et extraction – distillation simultanées

Tout comme l'extraction liquide-liquide, la distillation à la vapeur (de l'anglais Steam Distillation, SD) est une méthode particulièrement employée afin d'extraire les composés volatils [73]. Celle-ci est

conduite en utilisant un système de distillation avec de la vapeur d'eau combiné à une extraction au solvant. Une variante de cette méthode de distillation à la vapeur est la méthode d'extraction - distillation simultanées (de l'anglais Simultaneous Distillation Extraction, SDE) [73]. Celle-ci permet d'isoler et de concentrer les composés volatils en une étape simplifiant alors la procédure de la SD ce qui, permet aussi de réduire le temps d'extraction [75]. Toutefois, ces deux méthodes d'extraction ne sont que peu compatibles avec les matrices constituées de composés thermolabiles puisque ces dernières ont recours à de hautes températures pouvant causer une dégradation thermique de ce genre de matrices. Malgré cet inconvénient, ces méthodes demeurent tout de même relativement utilisées en raison de leur grande capacité d'extraction et de la simplicité de leurs dispositifs expérimentaux [73]. En particulier, la littérature rapporte de nombreuses utilisations de la SDE afin d'extraire les composés volatils présents dans des matrices d'origine marine de différentes natures comprenant diverses variétés de poissons comme le saumon [67,76], la dorade [77] ou le pompaneau lune [78], de mollusques [79], mais aussi de sauces ou de pâtes de poisson [80,81].

De nouvelles méthodes d'extraction ont vu le jour à partir de ces méthodes classiques telles que la micro-extraction avec solvant combinée à l'hydrodistillation (de l'anglais Hydrodistillation with Solvent Microextraction, HD-SME) mise au point par Hashemi *et al.* (2007) [82]. Celle-ci permet une meilleure performance d'extraction comparativement à la simple distillation à la vapeur d'eau. De la même manière, l'extraction-distillation assistée par microondes (de l'anglais Simultaneous Distillation Extraction Microwave-Assisted, MW-SDE) a été développée par Ferhat *et al.* (2007) [83]. Cette méthode permet de réduire le temps d'extraction et la quantité de solvant organique utilisé en raison de l'énergie des microondes convertie en chaleur durant l'extraction [73]. Finalement, l'extraction-distillation simultanées sous vide (de l'anglais Simultaneous Distillation Extraction under Static Vacuum, SDE-SV) est une alternative permettant de pallier la dégradation thermique des composés thermolabiles pouvant se produire durant la SDE conventionnelle. Cette méthode permet, en effet, d'extraire à température ambiante les composés volatils, mais est, en revanche, demandeuse en termes de temps et nécessite une grande quantité d'échantillons initiale [72].

Toutefois, les méthodes impliquant le recours à un solvant peuvent conduire à des chromatogrammes biaisés une fois les extraits analysés par chromatographie gazeuse. En effet, il a déjà pu être constaté que le pic de solvant pouvait masquer des composés volatils dont l'élution se produisait en début d'analyse [72,73]. De ce fait, les méthodes d'extraction ne nécessitant pas de solvant telles que les méthodes d'extraction de l'espace de tête (de l'anglais headspace) sont aujourd'hui particulièrement appréciées.

1.2.3.1.3. Méthodes d'extraction sans solvant

1.2.3.1.3.1. Méthodes d'extraction de l'espace de tête

Les méthodes d'extraction de l'espace de tête peuvent être effectuées en condition statique ou dynamique. L'analyse de l'espace de tête en condition statique comprend un temps d'attente correspondant à la mise en équilibre de la phase vapeur de l'échantillon à analyser. Une fois que l'équilibre est atteint, la fraction sous forme de vapeur peut être injectée à l'aide d'une seringue étanche dans un chromatographe en phase gazeuse généralement couplé à un spectromètre de masse. Lorsque l'extraction de l'espace de tête se fait en condition dynamique, un gaz inerte circule au niveau de l'échantillon d'intérêt afin d'entraîner les composés volatils présents au sein de celui-ci. Il s'en suit une injection de la fraction récupérée dans un outil chromatographique comme mentionné précédemment [84]. Dans la mesure où les composés volatils sont généralement présents à de très faibles concentrations, bien souvent ces derniers sont d'abord piégés et pré-concentrés sur un matériau d'adsorption afin de maximiser leur détection avant d'être injectés dans un chromatographe. Les méthodes de pré-concentration les plus couramment employées, à cet effet, sont, en conditions statique et dynamique, la microextraction en phase solide et le système « purge & trap » respectivement. Ces méthodes feront l'objet des paragraphes qui suivent.

A) Micro-extraction en phase solide

La micro-extraction en phase solide (de l'anglais Solid Phase Micro-Extraction, SPME) a été développée par Arthur et Pawliszyn en 1989 [74]. Cette méthode d'extraction consiste à exposer l'échantillon à analyser à un matériau recouvert de polymères poreux afin que les composés volatils puissent s'adsorber à celui-ci (Figure 1-7) [85]. Ainsi, la nature du matériau adsorbant revêt un caractère primordial. Les phases stationnaires les plus couramment utilisées sont généralement le polydiméthylsiloxane (PDMS), le carboxen (CAR) ou le divinylbenzène (DVB). Les analytes sont extraits et concentrés sur la fibre et peuvent ensuite être directement désorbés au niveau du port d'injection du chromatographe. Généralement, la désorption se fait de manière thermique [74]. La SPME permet d'extraire et de concentrer en une étape permettant de réduire le temps de préparation. Il s'agit d'une méthode simple, efficace, non-invasive, facilement combinable avec la chromatographie en phase gazeuse (de l'anglais Gas Chromatography, GC) ou avec le couplage chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse (de l'anglais Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) et qui, de surcroît est respectueuse de l'environnement. La SPME est utilisée dans les domaines des analyses biologiques, environnementales, pharmaceutiques ou encore des fragrances [73]. Toutefois, il ne faut pas négliger certains inconvénients accompagnant cette méthode tels que la capacité d'extraction limitée de la SPME et l'adsorption compétitive qu'il peut y avoir entre les composés [72,73]. Malgré cela, l'usage de la SPME est fréquemment rapporté dans la littérature lorsqu'il s'agit d'extraire les composés volatils présents des matrices d'origine marine telles que diverses variétés de poissons incluant le

poisson-chat ou la sardine [65,86], des huiles de poisson [87,88], des co-produits de poisson [61] ou encore des sauces de poisson [89–91].

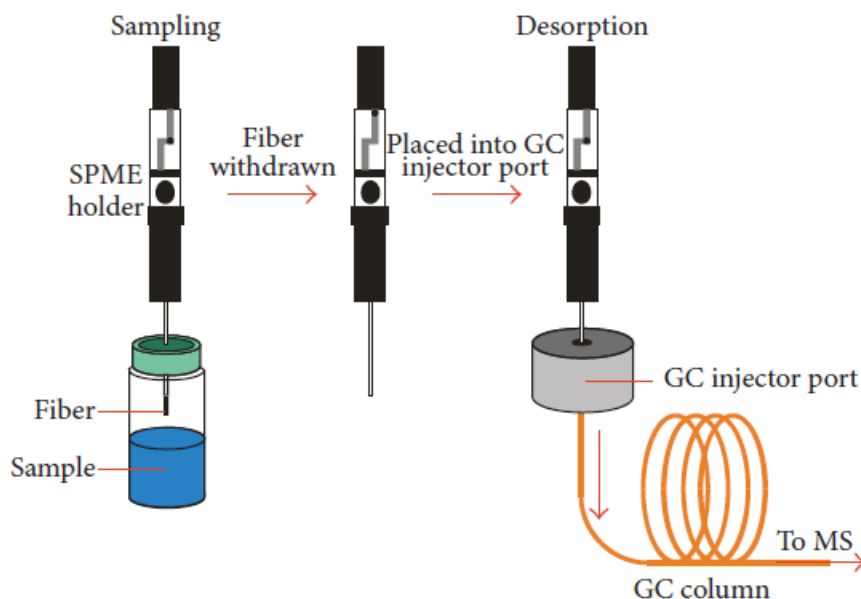


Figure 1-7. Procédé d'extraction par SPME suivi d'une analyse par chromatographie gazeuse – spectrométrie de masse (tiré de Schmidt et Podmore (2015) [85])

L'extraction par sorption sur barreau magnétique (de l'anglais Stir Bar Sorptive Extraction, SBSE) est une alternative à la SPME. Celle-ci a été développée à la fin des années 1990 et permet l'analyse des composés volatils présents sous forme de traces. Cette méthode repose sur l'emploi d'un barreau recouvert d'un matériau adsorbant (généralement, le PDMS) immergé directement dans l'échantillon. Selon l'affinité des composés présents dans l'échantillon, ces derniers pourront s'adsorber ou non sur le barreau. Ils seront ensuite désorbés thermiquement au niveau du port d'injection du GC. L'intérêt principal de la SBSE en comparaison avec la SPME est le fait que la fibre de SBSE est de 50 à 250 fois plus épaisse que celle de la SPME ce qui permet d'extraire un taux plus élevé de composés volatils conduisant alors à des seuils de détection plus faibles [74]. Cette méthode d'extraction a notamment permis d'isoler les composés volatils responsables d'odeurs déplaisantes dans les filets de saumon [92].

B) Purge & Trap

La méthode Purge & Trap (P&T) utilise un gaz inerte hautement purifié en tant que gaz vecteur, généralement de l'azote ou de l'hélium, afin d'entraîner les composés volatils présents dans l'échantillon dans un piège contenant le matériau de sorption tel que le Tenax [73,84]. Ensuite, la température augmente rapidement afin de désorber les composés volatils du matériau de sorption (Figure 1-8). Le type de matériau employé peut varier de sorte que la P&T peut atteindre une haute sélectivité pour différents composés volatils. Prolonger de façon adéquate le temps d'extraction peut améliorer le taux de récupération des composés volatils. En outre, la méthode P&T a démontré sa performance pour

extraire non seulement des composés volatils, mais aussi des composés semi-volatils [73]. De la même manière que pour la SPME, l'usage de la méthode P&T afin d'extraire les composés volatils de matrices d'origine marine est aussi décrit dans la littérature. Cette méthode a notamment été employée afin d'extraire les composés volatils de diverses variétés de poissons telles que l'anguille, la dorade ou le thon [63,93] ou encore de sauces de poisson [94,95]. Néanmoins, bien que cette méthode soit largement utilisée et ait déjà pu démontrer sa pertinence à différents niveaux, elle requiert une instrumentalisation dispendieuse et des coûts analytiques élevés pouvant limiter son utilisation [73].

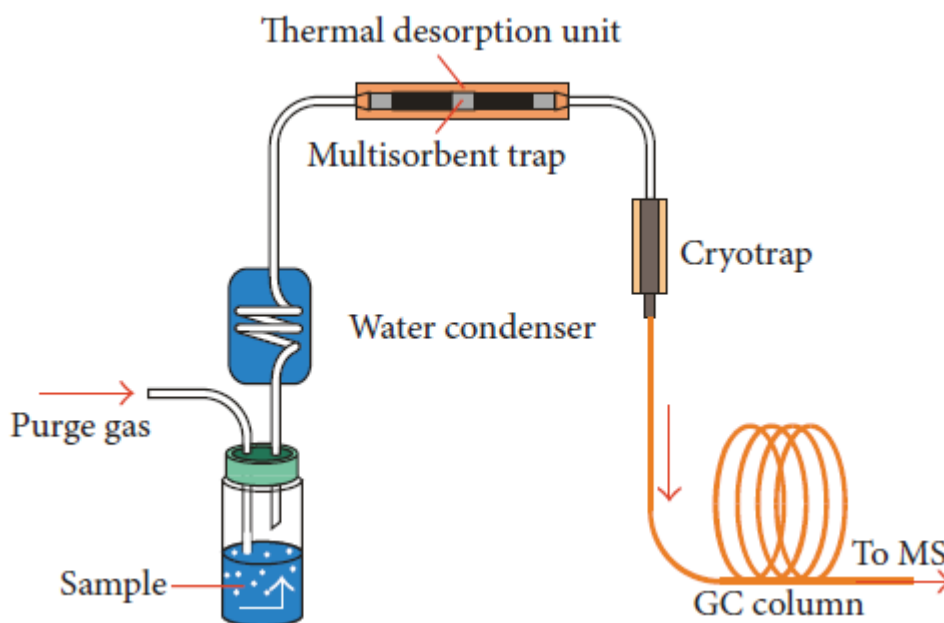


Figure 1-8. Procédé d'extraction P&T suivi d'une analyse par chromatographie gazeuse – spectrométrie de masse (tiré de Schmidt et Podmore (2015) [85])

Une alternative à la méthode P&T repose sur une extraction sur membrane avec interface de sorption (de l'anglais Membrane Extraction with Sorbent Interface, MESI). La différence entre les méthodes P&T et MESI repose sur le sorbant. Avec la MESI, la membrane d'extraction est utilisée en tant qu'alternative au matériau d'adsorption conventionnellement employé en P&T. La technique MESI présente l'avantage d'être peu dispendieuse contrairement à celle de P&T. De plus, la méthode MESI s'accompagne de peu de perte en composés volatils et se connecte facilement à la GC et au GC-MS [73].

1.2.3.1.3.2. Extraction au fluide supercritique

L'extraction par fluide supercritique (de l'anglais Supercritical Fluid Extraction, SFE) est une méthode de séparation et d'extraction basée sur le recours à un fluide supercritique employé en tant que solvant d'extraction. Les fluides supercritiques présentent des propriétés communes aux gaz et aux liquides et, ces derniers sont produits soit en chauffant un gaz au-delà de sa température critique soit en comprimant un liquide au-delà de sa pression critique. Les fluides supercritiques sont considérés comme des solvants verts et se distinguent, par le fait même, des méthodes d'extraction traditionnelles

employant des solvants chimiques précédemment décrites. À cet effet, le dioxyde de carbone est largement employé en raison de sa faible température critique égale à 31°C et parfois, celui-ci est utilisé en association avec d'autres solvants tels que l'éthanol ou le méthanol afin d'améliorer l'extraction. Néanmoins, dans ce cas, la quantité de solvant employée demeure relativement plus faible que celle utilisée lors des méthodes d'extraction au solvant conventionnelles. La SFE peut être perçue comme une alternative à la LLE. De plus, lorsque le dioxyde de carbone est utilisé, celui-ci présente l'avantage d'être facilement éliminable grâce à une simple réduction de pression, ne laissant alors aucune trace résiduelle dans l'extrait obtenu. À ce stade, il convient de mentionner que de par sa capacité à extraire les composés volatils, l'extraction au dioxyde de carbone supercritique a même déjà été employée en tant que méthode de désodorisation de produits d'origine marine [96,97]. Cet aspect sera davantage développé plus loin dans cette synthèse bibliographique. Il demeure intéressant de souligner également qu'outre sa capacité à extraire les composés volatils, cette technologie s'est aussi avérée performante pour la récupération de composés à haute valeur ajoutée, en l'occurrence les lipides et la coenzyme Q10, présents dans le hareng de l'Atlantique [98]. Toutefois, bien que l'extraction au fluide supercritique peut être considérée aujourd'hui comme une alternative d'extraction prometteuse, un tel procédé possède tout de même des inconvénients tels qu'un coût élevé ou encore un faible pouvoir d'extraction à l'encontre des composés fortement polaires [73].

1.2.3.1.4. Comparaison de la performance des méthodes d'extraction

Les méthodes d'extraction précédemment décrites possèdent toutes leurs spécificités. Ainsi, si la finalité recherchée est une vision globale du contenu en composés volatils d'une matrice, il est conseillé d'avoir recours à plusieurs de ces méthodes d'extraction. Par exemple, il a été constaté que la SDE était plus performante que la SPME pour extraire les cétones méthylées. En revanche, la SPME présenterait une meilleure capacité à extraire les acides carboxyliques que la SDE [99]. Aussi, il a déjà pu être rapporté que la SPME et la P&T avaient des performances d'extraction semblables à l'égard de l'ensemble des classes de la chimie organique [84]. Toutefois, la P&T serait plus performante que la SPME pour extraire des composés volatils de faible et de haut poids moléculaire [100,101]. De plus, la P&T serait la méthode à privilégier pour extraire des composés volatils présents à l'état de traces [100]. Il est intéressant de souligner que lorsque la finalité recherchée est d'avoir une vision globale du contenu en composés volatils, un test de représentativité de l'extrait obtenu peut être mené afin de s'assurer que la méthode d'extraction utilisée rend compte de façon fidèle des propriétés olfactives de la matrice à l'étude. Pour ce faire, un panel peut être rassemblé et, il sera demandé aux individus constituant ce panel d'évaluer les similitudes olfactives existant entre l'extrait obtenu et la matrice initiale. Cette façon de faire a déjà été rapportée lorsque les composés volatils du saumon frais et fumé ont été étudiés [67,76].

1.2.3.2. Dérivation des composés volatils

Certains composés volatils sont complexes à analyser en raison de leurs propriétés physico-chimiques ou du fait de la composition de la matrice dans laquelle ces derniers sont présents. Ainsi, pour pallier cette difficulté, il est courant d'avoir recours à une étape de dérivation. La dérivation consiste à faire réagir l'échantillon d'intérêt avec un agent réactif. La sélection de l'agent de dérivation dépend de la classe chimique à laquelle les composés à extraire appartiennent. Les composés volatils nécessitant une dérivation sont principalement des composés aminés ou encore des acides carboxyliques [74,102]. Généralement, les agents de dérivation employés permettent de réduire la polarité de ces composés ou d'augmenter leur volatilité de sorte à faciliter leur extraction et leur analyse subséquente par chromatographie [74]. La dérivation peut se faire en amont de l'analyse chromatographique ou bien directement au niveau de la colonne lors de la séparation des composés volatils [102]. Pour les composés aminés, les réactions de dérivation peuvent consister en la formation de bases de Schiff ou encore d'amides. Dans ce cas, les agents de dérivation employés peuvent être respectivement du chlorure de pentafluorobenzoyl et du benzoate de N-succinimidyl. Pour les acides carboxyliques, les réactions de dérivation consistent généralement en des réactions d'estérification ou de silylation. Dans ce cas, les agents de dérivation utilisés peuvent être respectivement du méthanol et du triméthylsilyle [102].

Bien que la dérivation soit, aujourd'hui, une procédure connue, certains points doivent cependant toujours être considérés lorsqu'une telle étape est envisagée. En effet, il faut savoir que la réaction entre un agent de dérivation et les composés volatils ciblés peut conduire à la formation d'un composé dont la masse moléculaire peut excéder la valeur limite des masses moléculaires pouvant être analysées par GC. De plus, la réaction de dérivation peut engendrer la formation de plusieurs produits pouvant complexifier l'interprétation des chromatogrammes obtenus. Finalement, l'agent de dérivation doit être ajouté en excès afin de garantir la réaction entre celui-ci et les composés ciblés [74].

1.2.3.3. Identification des composés volatils

Une fois les composés volatils extraits, il est possible de procéder à leur identification. À cet effet, le couplage GC-MS est la méthode de référence [73].

1.2.3.3.1. Principe général de l'analyse par chromatographie gazeuse – spectrométrie de masse

L'analyse par chromatographie gazeuse – spectrométrie de masse (GC-MS) permet de séparer les composés volatils grâce à la contribution de la composante GC et de les identifier au niveau moléculaire grâce à la contribution de la composante MS. Cet outil est aujourd'hui considéré comme l'un des plus précis et des plus performants pour l'identification des composés volatils. Le fonctionnement d'un GC repose sur le principe qu'un mélange peut être séparé en substances individuelles sous l'effet d'un

chauffage. La séparation repose sur la différence d'affinité pour les composés entre une phase stationnaire et une phase mobile. L'échantillon est alors injecté à l'entrée du GC où il y est vaporisé. Puis, celui-ci pénètre dans une colonne chromatographique où il y est entraîné par un gaz vecteur (généralement de l'hélium). Dans la colonne chromatographique, les composés présents dans l'échantillon sont séparés selon leur interaction avec la phase stationnaire et le gaz vecteur. Les colonnes les plus employées pour l'analyse des composés volatils sont celles comprenant une phase stationnaire apolaire telle que le PDMS. Dans ce cas, les composés polaires élueront plus rapidement que les composés apolaires puisque ces derniers seront davantage retenus au niveau de la phase stationnaire. Les colonnes chromatographiques les plus couramment utilisées sont des colonnes capillaires dont la longueur varie entre 25 et 30 m ce qui permet de garantir une bonne résolution et un temps raisonnable d'analyse [73,74].

La colonne chromatographique prend fin à l'entrée d'une source d'ions et la composante MS vient ici prendre le relais de la composante GC. Au niveau de la source d'ions, les composés élués de la colonne sont convertis en ions. L'ionisation électronique (de l'anglais Electron Ionization, EI) est le mode d'ionisation le plus ancien et le plus connu et, aujourd'hui le plus utilisé à des fins d'identification des composés volatils. Dans ce cas, un faisceau d'électrons ionise les composés de l'échantillon ce qui résulte en la formation d'ions moléculaires et d'ions plus petits. La nature et l'abondance relative des fragments obtenus suite à l'étape d'ionisation fournissent une « empreinte » caractéristique de la structure moléculaire du composé dont ils sont issus. L'analyseur de masse sépare ensuite les ions selon leur rapport m/z . Les analyseurs de masse peuvent être un quadrupôle simple ou en tandem, une trappe d'ions ou être du type temps de vol (de l'anglais Time of Flight, TOF). Le quadrupôle simple est, de nos jours, le plus utilisé. Finalement, le détecteur se charge ensuite de convertir le signal ionique en signal électrique permettant ainsi l'obtention d'un spectre de masse. Le spectre de masse obtenu est propre à chaque composé et celui-ci exprime l'abondance relative des fragments en fonction de leur rapport m/z . Les détecteurs à spectromètre de masse sont très populaires pour l'identification des composés volatils. En effet, de tels détecteurs permettent une haute sensibilité et fournissent de précieuses informations relatives au spectre des composés permettant alors de procéder à leur identification [74]. Des détecteurs plus spécifiques peuvent être employés afin de procéder à l'identification de certains composés volatils plus précisément. À cet effet, le détecteur azote-phosphore (de l'anglais Nitrogen-Phosphorus Detector, NPD) est particulièrement adapté pour la mise en évidence et l'identification des composés azotés et soufrés [103].

1.2.3.3.2. Recherche dans les bases de données

Les bases de données relatives aux spectres de masse sont devenues aujourd'hui un outil indispensable pour procéder à l'identification des composés volatils. La stratégie utilisée consiste à comparer les spectres de masse obtenus suite à l'analyse par GC-MS avec la combinaison disponible

dans les différentes bases de données. Le nombre de bases de données et d'algorithmes permettant l'identification des composés volatils ne cesse d'augmenter. De nos jours, la base de données Nationale Institute of Standards and Technology (NIST) demeure la base de données commerciale la plus utilisée suivie ensuite par la base de données Wiley [74].

1.2.3.3. Composés volatils identifiés dans les matrices d'origine marine

Les composés volatils identifiés dans les matrices d'origine marine appartiennent aux différentes classes de la chimie organique. Toutefois, les alcools, aldéhydes, cétones ou encore acides carboxyliques demeurent les classes de molécules retrouvées de manière récurrente dans ce genre de matrices [67,76,81,89,90,104]. En effet, les matrices d'origine marine renferment une quantité importante d'acides gras polyinsaturés particulièrement sensibles aux phénomènes d'oxydation. Les alcools, aldéhydes, cétones et acides carboxyliques étant des produits issus de la dégradation des acides gras polyinsaturés, ceci explique la raison pour laquelle ces derniers sont généralement présents en grand nombre dans ces matrices [60,65]. En plus de ces composés, des représentants azotés et soufrés sont également rapportés [12,65]. Plus particulièrement, en ce qui a trait aux produits d'origine marine, trois composés azotés sont d'une importance capitale : l'oxyde de triméthylamine (TMAO), la triméthylamine (TMA) ainsi que la diméthylamine (DMA) (Figure 1-9). Plus précisément en ce qui a trait au TMAO, ce dernier revêt un rôle important dans les organismes marins. En effet, le TMAO est un osmorégulateur permettant de prévenir la déstabilisation des protéines sous hautes pressions hydrostatiques ainsi que la déshydratation de ces organismes. L'occurrence du TMAO varie fortement en fonction de l'espèce de poisson, mais aussi en fonction de son habitat. Généralement, les espèces d'eau douce ne contiennent pas ou très peu de TMAO à l'inverse des espèces d'eau salée [105,106]. Le TMAO est produit à partir de composés comprenant un groupement azoté tel que la choline ou la carnitine et, sa dégradation est responsable de la formation de TMA et DMA connues pour l'odeur déplaisante qu'elles confèrent aux matrices d'origine marine [12,105,106]. La conversion du TMAO en TMA et DMA peut se faire selon différents mécanismes dépendamment des conditions du milieu. En effet, sous des conditions de température variant de l'ordre de celles de la réfrigération à celles ambiantes, le TMAO peut être converti en TMA sous l'effet de la présence d'une flore d'altération microbienne. À cet effet, la TMA peut être aisément employée en tant qu'indicateur de l'état de fraîcheur des produits d'origine marine puisque sa présence est positivement corrélée à celle de microorganismes [13,65,66]. En revanche, sous des conditions de température de l'ordre de celles de la congélation, l'activité microbienne est fortement ralentie et l'action des enzymes endogènes prévaut. Plus précisément, sous de telles conditions est principalement rapportée la transformation du TMAO en DMA par l'enzyme TMAO-aldolase [13]. Outre ces mécanismes, le TMAO peut également être converti en DMA et en TMA sous l'effet de conditions réductrices [106].

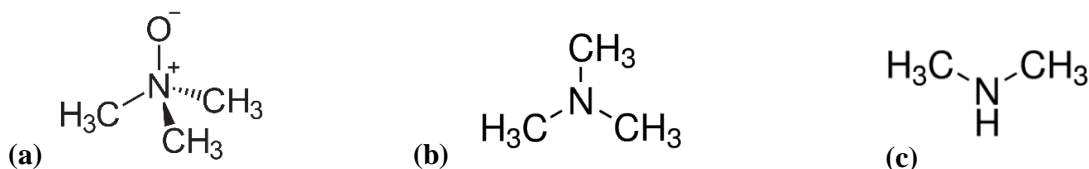


Figure 1-9. Molécules de (a) TMAO, (b) TMA et (c) DMA

1.2.3.3.4. Composés volatils identifiés dans le hareng

Les études relatives au contenu en composés volatils du hareng ainsi qu'aux matrices dérivées telles que le hareng salé, l'huile de hareng ou des co-produits issus du filetage du hareng révèlent également la présence des différentes classes de la chimie organique. Parmi les composés volatils identifiés, la présence d'aldéhydes est régulièrement rapportée. Ces aldéhydes peuvent être saturés tels que l'hexanal ou l'heptanal, insaturés comme le (E)-2-hexenal ou le (E,E)-2,4-heptadienal ou encore cycliques à l'image du benzaldéhyde. Les composés cétoniques tels que le 2,3-pentanedione ou le 1-pentèn-3-one sont également couramment identifiés dans le hareng et les matrices dérivées. En outre, le 1-pentèn-3-ol est le représentant de la classe des alcools le plus fréquemment rapporté dans ce genre de matrices tandis que la présence d'autres composés de cette classe semble être moins fréquente [80,107–112]. De la même manière, la présence d'acides carboxyliques est beaucoup moins rapportée dans les matrices du hareng [112]. Finalement, concernant les composés de TMAO, TMA et DMA, seule la TMA a déjà pu être identifiée dans du hareng salé [107]. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que ces trois amines sont beaucoup plus complexes à étudier.

1.2.3.4. Quantification des composés volatils

Au-delà de la simple approche qualitative permise par l'identification des composés volatils, il est également possible d'avoir recours à une approche quantitative. La quantification des composés volatils se fait principalement par le recours au couplage GC-MS ou au couplage de la GC avec un détecteur à ionisation de flamme (de l'anglais Flame Ionization Detector, FID). Deux stratégies peuvent alors être employées à cet effet. L'approche suivie peut être une approche dite quantitative ou semi-quantitative.

1.2.3.4.1. Approche quantitative

L'approche quantitative permet de rendre compte de la concentration exacte à laquelle un analyte est présent dans un échantillon. Pendant très longtemps, le détecteur le plus utilisé à cet effet était le détecteur FID. Celui-ci est relativement stable et hautement sensible permettant une limite de détection variant de l'ordre du picogramme au nanogramme. Ceci explique la raison pour laquelle le GC-FID est généralement utilisé pour quantifier les composés volatils. Toutefois, le GC-MS peut également être employé à des fins de quantification. Généralement, la stratégie employée afin de procéder à la quantification de composés d'intérêt par GC-FID ou par GC-MS consiste à utiliser des

standards externes purs de ces composés. Plus précisément, la détermination de la concentration à laquelle les composés d'intérêt sont présents dans l'échantillon analysé repose sur l'établissement de courbes de calibration produites à partir de concentrations connues de leurs standards purs [108]. Bien que cette stratégie offre un haut degré de précision, certains inconvénients sont à souligner. En effet, une matrice peut contenir un nombre important de composés volatils. De ce fait, se procurer un nombre important de standards purs de ces composés et effectuer des courbes de calibration pour chacun de ces derniers demande non seulement un important investissement financier mais aussi de temps. De plus, il n'existe pas systématiquement de standards purs pour tous les composés volatils. Finalement, un détecteur FID ne permet pas d'avoir accès à des informations spectrales relatives à l'analyte ciblé à des fins d'identification. De ce fait, une analyse quantitative par GC-FID se doit d'être couplée nécessairement à une analyse par GC-MS [74]. Récemment, cette façon d'opérer a été rapportée à des fins de quantification des composés volatils présents dans des matrices d'origine marine telles que les eaux de cuisson du crabe des neiges et celles du homard américain [113,114].

1.2.3.4.2. Approche semi-quantitative

L'approche semi-quantitative permet d'estimer l'abondance relative à laquelle un analyte est présent dans un échantillon. Pour ce faire, la procédure suivie repose essentiellement sur le recours au GC-MS. À cet effet, la normalisation est l'une des méthodes les plus couramment utilisées. En théorie, lorsque tous les composés de l'échantillon peuvent être élués et détectés durant la séparation chromatographique, ces derniers peuvent être semi-quantifiés de manière précise par la normalisation. Différentes stratégies de normalisation sont rapportées dans la littérature. Il est possible d'évaluer le ratio entre l'aire du pic d'intérêt et l'aire totale correspondant à l'ensemble des pics dans l'échantillon [73]. Cette stratégie est fréquemment rapportée en ce qui a trait à l'étude du contenu en composés volatils de diverses matrices d'origine marine [12,78,87,88]. Il convient de mentionner que dans certains cas, seule l'aire sous le pic d'intérêt peut être considérée et, il ne s'avère pas nécessaire d'effectuer le ratio entre l'aire sous ce pic et l'aire totale. En effet, lorsqu'il s'agit de comparer des échantillons de nature similaire, la considération de l'aire sous le pic d'intérêt peut déjà être perçue comme suffisamment représentative du contenu de l'échantillon analysé [115,116]. Une autre stratégie employée à des fins de normalisation repose sur le recours à un standard interne. Dans ce cas, la semi-quantification est effectuée en extrapolant l'aire du standard ajoutée à une concentration connue à celle du pic d'intérêt [117]. Des applications de cette stratégie sont aussi rapportées dans la littérature en ce qui concerne l'étude du contenu en composés volatils de différentes matrices d'origine marine [67,76,81,118]. Toutefois, lorsqu'une telle stratégie est utilisée, la sélection d'un standard interne doit se faire en respectant certains critères. En effet, le standard interne doit disposer d'une structure relativement proche de celle des composés d'intérêt afin d'être analysable dans des conditions similaires à ces derniers sans être naturellement présent dans l'échantillon analysé afin de prévenir toute interférence. En outre, il est nécessaire de s'assurer que le standard interne ne s'éluie pas simultanément avec un autre

composé d'intérêt. Une variante à l'ajout d'un simple standard interne repose sur le recours à un standard interne isotopiquement marqué. Ceci permet une approche semi-quantitative d'une précision supérieure puisque dans ce cas, les composés isotopiques possèdent une structure similaire aux composés volatils étudiés tout en étant naturellement absents de la matrice analysée. Cette méthode de dosage des dilutions d'isotopes stables (de l'anglais, Stable Isotope Dilution Assays, SIDA) consiste à ajouter des concentrations connues d'analogues stables et isotopiquement marqués des composés volatils présents dans l'échantillon analysé [89,119]. Cette méthode a notamment été employée par Lapsongphon *et al.* (2013) afin de procéder à la quantification des composés odorants d'une sauce de poisson [89]. De nos jours, les approches semi-quantitatives demeurent l'avenue la plus intéressante afin de compléter l'analyse purement qualitative des composés volatils et ce, surtout lorsque les standards des composés ciblés ne sont pas commercialement disponibles. Il convient tout de même de souligner que dans l'éventualité où des facteurs de correction peuvent être retrouvés dans la littérature et/ou déterminés de façon expérimentale, l'approche semi-quantitative peut donner lieu à une approche quantitative et ce, sans avoir recours à des standards purs des composés ciblés [73].

1.2.3.5. Caractérisation de l'odeur des composés volatils

Les méthodes précédemment décrites permettent d'apporter de nombreuses informations sur les composés volatils. Toutefois, leur limite principale est qu'elles ne permettent pas d'apporter des informations quant à l'odeur de ces composés. De ce fait, des méthodes plus spécifiques se doivent d'être employées. Ceci revêt un caractère d'autant plus crucial dans la mesure où parmi les milliers de composés volatils déjà identifiés, seuls 5 à 10% posséderaient réellement une odeur [120]. Les méthodes actuellement employées afin de caractériser les odeurs sont la chromatographie gazeuse couplée à l'olfactométrie (GC-O), les nez électroniques et, l'olfactométrie dynamique. Ces méthodes permettent donc d'apporter une vision beaucoup plus précise quant à l'odeur d'un échantillon [72,119].

1.2.3.5.1. Chromatographie gazeuse – olfactométrie

1.2.3.5.1.1. Principe général

La GC-O permet de séparer les composés volatils d'un échantillon et, de déterminer de façon simultanée si ces derniers véhiculent une odeur en utilisant le nez humain en tant que détecteur sensoriel [72]. L'instrumentation de la GC-O ne se distingue de celle de la simple chromatographie en phase gazeuse que par la division du flux en sortie de colonne chromatographique (Figure 1-10) [103]. Ainsi, une partie du flux est dirigée vers un détecteur physique communément employé en analyse chromatographique tel qu'un détecteur FID ou MS. L'autre partie du flux est dirigée quant à elle vers un port de détection olfactométrique depuis lequel un individu évalue l'odeur des composés élués. Sont ainsi obtenus à l'issue de cette analyse un chromatogramme représentant les composés volatils présents dans l'échantillon étudié ainsi qu'un olfactogramme dépeignant les composés volatils dotés d'une

activité olfactive [72,103]. Le recours à la GC-O a déjà été rapporté en ce qui concerne l'étude de l'odeur de diverses matrices d'origine marine : sauce de poisson [89] ; mollusques tels que la moule [121] ; poissons tels que saumon, sardine, poisson-chat [65,67,76,122].

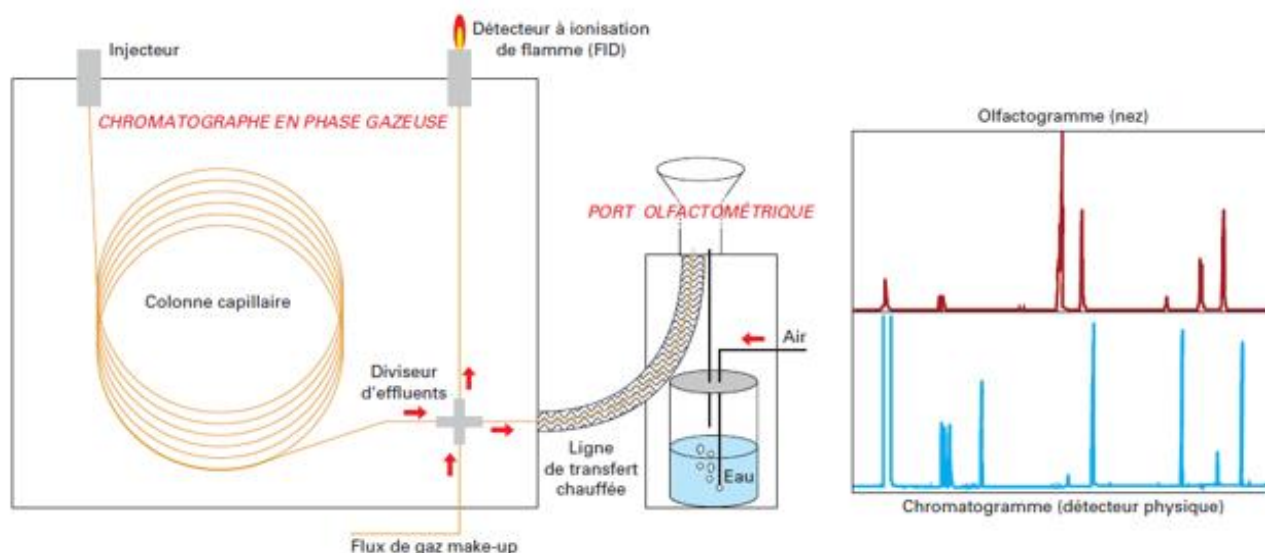


Figure 1-10. Appareillage de la GC-O ne se distinguant que de la simple GC par la division du flux en sortie de colonne : une partie se dirige vers un détecteur tel qu'un détecteur FID (ou tout autre type de détecteur) et une autre partie se dirige vers le port olfactométrique (d'après Fernandez et al. (2009) [103])

Il existe différentes stratégies d'analyse de l'odeur des composés volatils par GC-O. Celles-ci peuvent être purement descriptives, impliquer des dilutions ou encore consister en l'étude de la fréquence de détection ou de l'intensité des composés volatils [73]. Le choix de la stratégie d'analyse en GC-O se fait en fonction de la finalité recherchée et du nombre de panélistes disponibles [103].

1.2.3.5.1.2. Stratégie de caractérisation de l'odeur des composés volatils par chromatographie gazeuse – olfactométrie

A) Caractérisation de l'odeur par approche purement descriptive

Cette stratégie opératoire est la plus simple et permet d'obtenir de façon rapide des informations sur les composés actifs olfactivement dans un échantillon. Chacun des évaluateurs conviés à l'étude caractérise de manière purement qualitative l'odeur perçue [103]. Toutefois, cette méthode implique, afin de garantir des résultats fiables, pertinents et avant tout répétables, une harmonisation des descripteurs employés afin de décrire les odeurs [103,122]. Afin de simplifier cette stratégie, des approches purement descriptives ont recours à des grilles d'évaluation afin que chaque membre du panel puisse rapporter plus aisément ce qu'il perçoit [103]. Malgré cela, la caractérisation de l'odeur par approche purement descriptive n'est pas une stratégie couramment employée de nos jours de par le peu d'informations que celle-ci apporte.

B) Caractérisation de l'odeur par la méthode des dilutions successives

Contrairement à l'approche purement descriptive par GC-O, les méthodes de dilutions successives permettent d'apporter des informations supplémentaires sur les molécules odorantes en renseignant notamment sur leur puissance olfactive. Celles-ci sont globalement de deux ordres : la méthode d'analyse par dilution d'extrait d'arôme (de l'anglais Aroma Extract Dilution Analysis, AEDA) et la méthode d'analyse de la mesure de l'occurrence du plaisir d'une réponse aromatique (de l'anglais Combined Hedonic of Aromatic Response Measurement, Charm) [103,119]. Il n'est pas nécessaire pour ces méthodes de faire appel à un panel entraîné et l'intervention d'un ou deux juges est considérée comme suffisante [103]. L'AEDA implique des dilutions croissantes successives de l'échantillon étudié à l'aide d'un solvant comme par exemple l'éther diéthylique [89]. Le facteur de dilution choisi demeure constant tout au long de l'analyse. Chaque dilution est ensuite analysée par GC-O. L'analyse prend fin lorsque plus aucune odeur n'est détectée par un panéliste pour chacun des composés élués [103]. Au travers de cette procédure, est déterminé pour chacun des composés odorants le facteur de dilution de saveur (FD) également appelé puissance olfactive qui correspond à la dernière dilution pour laquelle l'odeur du composé est encore perceptible [103,119]. Le facteur de dilution est déterminé selon l'équation (1) suivante :

$$FD = d^{n-1} \quad (1)$$

Où FD correspond à la puissance olfactive, d correspond au facteur de dilution constant (généralement 2) et n correspond au nombre de dilutions successives nécessaires pour que plus aucune odeur ne soit perceptible [103]. Les FD sont une mesure relative et sont proportionnels à l'activité odorante des composés (de l'anglais Odor Activity Value, OAV). L'OAV est définie comme le ratio entre la concentration du composé dans l'échantillon et son seuil de perception. L'OAV permet de discriminer les composés les plus puissants olfactivement : un composé dont l'OAV sera élevée sera perceptible même à de très faibles concentrations [103]. Il est également possible de procéder en sens inverse et, d'analyser des échantillons de plus en plus concentrés. Il s'agit dans ce cas de l'analyse par concentration d'extrait d'arôme (de l'anglais Aroma Extract Concentration Analysis, AECA). Cette méthode permet de limiter la perte des composés volatils pouvant survenir lors des dilutions croissantes de l'AEDA et ainsi, éviter toute sous-estimation du FD mais demeure toutefois beaucoup moins courante que l'AEDA [119].

La méthode Charm repose également sur un principe de dilutions successives tout en considérant également la durée du stimulus perçu par l'évaluateur [119]. Toutefois malgré cette information additionnelle, l'AEDA est souvent préférée à cette méthode dans la mesure où le traitement des données obtenues par Charm est décrit comme étant plus fastidieux [103].

Qu'il s'agisse de la méthode AEDA/AECA ou Charm, le temps d'analyse requis demeure relativement conséquent. En effet, pour une matrice complexe, une analyse complète peut durer toute une semaine. Ceci représente un inconvénient majeur et souvent un frein quant à leur utilisation [103,123]. De plus, bien que ces méthodes ne nécessitent qu'un nombre minime de participants ce qui initialement peut être considéré comme un avantage, ceci représente en réalité un certain inconvénient. En effet, ceci implique que l'analyse olfactive d'une matrice ne repose que sur l'intervention d'une ou deux personnes et dans ce cas l'incertitude relative à la perception humaine est conséquente. En effet, chaque individu possède des sensibilités différentes aux odeurs. Cette limite pourrait être palliée grâce à l'intervention d'un nombre plus conséquent de panélistes mais le temps d'analyse étant conséquent, ceci rendrait la procédure encore plus longue [103].

C) Caractérisation de l'odeur par la méthode de fréquence de détection

Les méthodes de fréquence de détection couplées à l'usage de GC-O consistent à évaluer le nombre d'individus capables de détecter une odeur à un temps de rétention précis. Ainsi dans l'olfactogramme obtenu, la hauteur de chaque pic correspondra au nombre d'individus du panel qui ont été capables de percevoir l'odeur du composé élué. Il s'agit dans ce cas de la méthode de la fréquence de l'impact nasal (de l'anglais Nasal Impact Frequency, NIF) [67,103]. Lorsque la durée du stimulus est aussi considérée, il s'agit de la méthode de la fréquence de l'impact nasal de surface (de l'anglais Surface Nasal Impact Frequency, SNIF) [103]. Les méthodes de fréquence de détection n'impliquent pas de diluer à plusieurs reprises l'échantillon étudié. Ceci permet donc un important gain de temps et, un plus grand panel peut ainsi être rassemblé [123]. Généralement, un panel comprenant de 8 à 12 juges est considéré comme suffisant afin de garantir des résultats fiables. De plus, dans le cadre de telles analyses, il n'est pas nécessaire d'avoir recours à un panel entraîné [103]. Ce type de stratégies est notamment utile afin de déterminer les composés contribuant majoritairement à l'odeur d'une matrice. En effet, peuvent être considérés comme tels, les composés volatils détectés par la majorité des membres du panel conviés à l'étude [76].

D) Caractérisation de l'odeur par la méthode d'intensité de détection

Les méthodes de temps-intensité (de l'anglais Time-Intensity Methods, TIM), couplées à l'usage de la GC-O permettent de donner des renseignements sur l'intensité d'une odeur perçue ainsi que sur la durée pendant laquelle elle est perçue. La méthode d'estimation de l'intensité spécifique de l'odeur (de l'anglais Odor Specific Magnitude Estimation, OSME), appartient à cette catégorie de méthodes. Le panéliste évalue dans ce cas l'amplitude de l'odeur perçue par le recours à une échelle de temps-intensité [90,103]. Toutefois, cette méthode requiert une grande concentration de la part de l'évaluateur et, parfois il se peut qu'une odeur soit perçue comme étant moins intense par le simple fait que ce dernier n'est plus capable en fin d'analyse d'adopter un réel esprit critique. Ainsi, afin de garantir

des résultats fiables avec une telle méthode, il est nécessaire de faire appel à un panel relativement entraîné composé d'au moins 8 individus [103].

E) Caractérisation de l'odeur par des méthodes hybrides

Plus récemment, des méthodes hybrides combinant plusieurs des stratégies précédemment décrites ont vu le jour. Parmi ces méthodes, figure la méthode de l'intensité postérieure ou la méthode VIDEO-Sniff (de l'anglais Vocabulary-Intensity-Duration of Elementary Odors by Sniffing) combinant les méthodes de fréquence de détection et d'intensité de détection [103,124]. En combinant plusieurs stratégies, les méthodes hybrides présentent l'avantage d'apporter une information beaucoup plus complète.

F) Comparaison des stratégies de caractérisation de l'odeur par chromatographie gazeuse – olfactométrie

Toutes les stratégies d'analyse par GC-O précédemment décrites présentent toutes des inconvénients et des avantages. Ainsi, le choix d'une stratégie se fait principalement en fonction de l'information qui est recherchée, mais aussi en fonction des ressources humaines disponibles [103]. Par exemple, si seul un petit panel peut être réuni, les méthodes de dilution seront à privilégier. Toutefois, dans ce cas, les informations qui découleront d'une telle analyse se résumeront à la détermination de la puissance olfactive des composés olfactivement actifs présents dans la matrice analysée. A contrario, si le but de l'analyse est de déterminer l'ensemble des composés contribuant majoritairement à l'odeur d'une matrice d'intérêt, dans ce cas, un panel beaucoup plus conséquent sera nécessaire pour pouvoir recourir à une méthode du type fréquence de détection. Quoiqu'il en soit, indépendamment de la stratégie d'analyse employée par GC-O, toutes ces stratégies permettent seulement de se concentrer sur les composés volatils olfactivement actifs de façon individuelle et ce, sans même tenir compte de l'effet que peut exercer la matrice et ses autres constituants non-volatils sur leur perception [125]. Ainsi, même si les méthodes par GC-O permettent d'apporter de précieuses informations sur le contenu odorant, il est nécessaire de les coupler avec d'autres approches telles que les analyses sensorielles qui, seront abordées ultérieurement dans cette revue de littérature, afin de rendre compte de façon plus réaliste de l'odeur globale de la matrice à l'étude.

Le tableau 1-2 résume les principaux composés volatils identifiés dans les matrices d'origine marine ainsi que leurs caractéristiques olfactives déterminées grâce aux stratégies d'analyse par GC-O.

Tableau 1-2. Composés volatils couramment rapportés dans les matrices d'origine marine et leurs caractéristiques olfactives (liste non exhaustive)

Classification	Composés	Descriptifs Olfactifs	Seuil de Perception (µg/kg)	Matrices	Références
Composés Azotés	Oxyde de triméthylamine	Aucune odeur	-	Mollusque, truite, merlu, chinchard	[12,13]
	Triméthylamine	Poisson, gras	0.032-0.47	Mollusque, truite, merlu, chinchard, huile de hareng	[12,13,107]
	Diméthylamine	Poisson, gras	33.0-47.0	Mollusque, truite, merlu, chinchard	[12,13]
	1,2-Diméthylpiperidine	Sueur		Sauce de poisson	[81]
	2-Méthylpyridine	Sueur		Hareng	[80]
	2-Ethylpyridine	Herbe	57.0	Carpe	[126]
	3-Ethylpyridine	Rance		Sauce de poisson	[81]
	2-Méthylpyrazine	Noix grillée		Saumon	[67]
	2,6-Diméthylpyrazine	Riz cuit, sucré		Sauce de poisson	[90]
	Indole	Fécal		Sauce de poisson	[81]
	4-Méthyl-1H-indole	Fécal		Sauce de poisson	[81]
	4-Méthylthiazole	Cuit		Poisson Chat	[122]
Alcools	1-Pentanol	Vert, cireux	150.2	Carpe, poisson-chat, huiles de thon et de calamar	[118,122,126]
	2-Pentanol	Vert		Hareng	[80]
	3-Pentanol	Vert		Hareng	[80]
	1-Nonanol	Vert, floral, fruité		Poisson Chat	[122]
	2-Nonanol	Vert, floral, fruité		Poisson Chat	[122]
	1-Pentèn-3-ol	Brûlé, viande	358.1	Hareng et co-produits, sauce de poisson, carpe, huiles de thon et de calamar	[80,90,109-111,118,126]
	1-Octèn-3-ol	Champignon	1.0-1.5	Co-produits de hareng, carpe, huiles de thon et de calamar	[111,118,126]
	Aldéhydes	Pentanal	Peinture, pomme, âcre	12.0-42.0	Mollusque, anguille
Hexanal		Vert, herbe, poisson, gras	4.5-5.0	Sardine, saumon, dorade, anguille, mollusque, hareng salé, huiles de thon et de calamar	[12,65,67,77,93,107,118]
Heptanal		Poisson, gras	0.7-2.9	Saumon, dorade, anguille, mollusque, hareng, huiles de thon et de calamar	[12,67,77,93,107,118]
Octanal		Citron, orange, poisson, gras	0.59	Sardine, saumon, dorade, anguille, mollusque	[12,65,67,77,93]
Nonanal		Citron, vert, gras	1.0	Dorade, mollusque, pompaneau lune, anguille	[77-79,93]
2-Méthylbutanal		Brûlé, malté, chocolat noir	1.0-3.0	Hareng, thon, dorade, sauce de poisson, huiles de thon et de calamar	[63,80,81,89,90,109,118]

3-Méthylbutanal	Malté, chocolat noir, noix	0.2-2.0	Thon, dorade, hareng, hareng salé, sauce de poisson	[63,80,89,90,107,109]
(Z)-4-Heptènal	Cuit, poisson	0.04-0.8	Sardine, saumon, dorade, mollusque, anguille, hareng et co-produits, hareng salé, huile de hareng	[65,67,77,79,80,93,107-111]
(E)-2-Pentènal	Pomme, peinture, gras	1500.0	Sardine, huiles de thon et de calamar	[65,118]
(E)-2-Hexènal	Eucalyptus, champignon		Saumon	[67]
(E)-2-Heptènal	Soufre, poisson	13.0	Mollusque	[12]
(E)-2-Octènal	Poisson, gras, vert, moisi	3.0	Sardine, carpe, huiles de thon et de calamar	[65,118,126]
(E)-2-Nonènal	Bois, floral, soufré, moisi	0.08	Saumon, dorade, poisson-chat	[67,77,122]
(E,E)-2,4-Hexadiènal	Frais, vert	10.0-60.0	Hareng et co-produits, carpe, huiles de thon et de calamar	[80,111,118,126]
(E,E)-2,4-Heptadiènal	Poisson, gras	10.0-15.4	Sardine, saumon, mollusque, hareng et co-produits, hareng salé, huiles de hareng, de thon et de calamar	[12,65,67,79,80,107,108,111,112,118]
(E,E)-2,4-Décadiènal	Vert, poisson, gras	0.07	Saumon, dorade, hareng, mollusque	[12,67,77,80]
(E,Z)-2,6-Nonadiènal	Concombre, floral	1.0	Sardine, saumon, hareng et co-produits	[65,67,80,108,111]
Benzaldéhyde	Amande, noix, sucre brûlé, fruit	41,7-4600.0	Thon, dorade, pompaneau lune, mollusque, hareng et co-produits, anguille, sauce de poisson	[63,67,78-81,93,109-111]
Benzèneacétaldéhyde	Bière pas fraîche	4.0	Saumon, dorade, sauce de poisson	[67,77,81]
Furfural	Pain, amande grillée		Anguille, huile de hareng	[93,107]
Méthional	Patates cuites	0.2	Sardine, saumon, huile de hareng	[65,67,107]
Cétones				
2-Butanone	Alcool, Solvant, Plastique		Poisson chat	[122]
3-Hexanone	Fruit		Hareng, hareng salé	[107,109]
2-Heptanone	Savon		Hareng	[80,109]
2-Octanone	Savon, herbe		Hareng	[109]
3-Octanone	Herbe, beurre, résine	28.0	Hareng, mollusque	[12,80]
2-Nonanone	Vert, herbe	200.0	Hareng, mollusque	[12,80]
2,3-Butanedione	Herbe		Thon, dorade, hareng, hareng salé, poisson-chat	[63,80,107,122]
2,3-Pentanedione	Herbe, beurre, fruit	15.0-5505.6	Sardine, hareng et co-produits, hareng salé, poisson-chat	[65,80,107,111,122]
2,3-Octanedione	Vert		Anguille, hareng	[93,109]
1-Pentèn-3-one	Poisson, peinture	0.73	Sardine, hareng et co-produits, huile de hareng	[65,80,108,111]
1-Octèn-3-one	Champignon		Sardine	[65]

	3,5-Octadièn-2-one	Plastique, gras, champignon		Saumon, anguille, hareng	[67,93,112]
Acides Carboxyliques	Acide Acétique	Aigre, piquant	22000.0	Hareng, sauce de poisson	[81,89,90,112]
	Acide Propanoïque	Acre, fromage, sueur	2000.0	Hareng, sauce de poisson	[81,89,90,112]
	Acide Butanoïque	Fromage, sueur, chaussettes sales	240.0	Hareng, sauce de poisson	[81,89,90,112]
	Acide Pentanoïque	Acre, fromage, sueur, chaussettes sales		Hareng, sauce de poisson	[81,90,112]
	Acide Heptanoïque	Fromage, sueur, chaussettes sales		Hareng, sauce de poisson	[81,90,112]
	Acide 2-Méthylpropanoïque	Fromage, fromage suisse	50.0	Sauce de poisson	[81,89]
	Acide 3-Méthylbutanoïque	Fromage, sueur, chaussettes sales	250.0	Hareng, sauce de poisson	[81,89,90,112]
	Acide 4-Méthylpentanoïque	Aigre, piquant		Sauce de poisson	[81]
Autres	Disulfure de diméthyle	Soufré, moisi, putride, poisson	0.3-1.1	Thon, dorade, anguille, carpe, poisson-chat, hareng salé, sauce de poisson,	[63,81,93,107,122,126]
	Trisulfure de diméthyle	Poisson, acre, pourri, soufré, chou	0.01	Hareng, hareng salé, sauce de poisson	[81,89,90,107,110]
	Méthanethiol	Pourri, soufré, chou	0.02	Hareng salé, sauce de poisson	[89,107]
	2-Ethylfurane	Acre, caoutchouc		Thon, dorade, mollusque, hareng et co-produits	[12,63,79,109,111,118]
	Camphène	Soufré, moisi		Poisson-chat	[122]
	α-Pinène	Vert, floral, fruité		Poisson-chat	[122]
	Limonène	Vert, floral, fruité		Hareng, poisson-chat	[109,122]
	Styrène	Alcool, solvant, plastique		Hareng, poisson-chat	[80,122]

1.2.3.5.2. Nez électroniques

Les nez électroniques consistent en un éventail de capteurs non-spécifiques, sensibles aux gaz et aux composés chimiques utilisés en tant que récepteurs sensoriels artificiels. Ils sont utilisés en tant que système de simulation artificiel d'un nez humain. Ils peuvent donc être employés à des fins de remplacement du nez humain ou bien en tant que complément. Ces derniers se sont davantage développés au cours des dernières années et sont actuellement employés pour analyser les profils en composés volatils dans les secteurs alimentaire et cosmétique notamment pour les huiles essentielles. Les nez électroniques répondent à un profil entier de composés volatils en mimant le signal neuronal produit lorsque le nez humain perçoit une odeur [72]. Toutefois, ces derniers ne permettent pas de discriminer chacun des composés. De ce fait, ce genre d'appareillage ne peut satisfaire pleinement aux exigences relatives à l'analyse des composés volatils [73].

Concernant les produits de la mer, les nez électroniques peuvent être employés afin d'évaluer l'état de fraîcheur des poissons [66]. Ceci est possible dans la mesure où la détérioration de la fraîcheur des produits de la mer est accompagnée par un changement de la concentration de certains composés clefs comme les alcools, les carbonyles ou les amines [127]. Également, la littérature mentionne le recours aux nez électroniques afin d'évaluer la performance d'un procédé de désodorisation appliqué aux matrices d'origine marine. De la même manière que dans un contexte d'évaluation de l'état de fraîcheur, la performance du procédé de désodorisation mis en œuvre est évaluée en considérant le degré de baisse du contenu des classes de la chimie organique ciblées [116]. Ainsi, l'usage des nez électroniques semble davantage adapté à des analyses de routine plutôt qu'à des analyses réalisées dans un but plus discriminatif.

1.2.3.5.3. Olfactométrie dynamique

L'olfactométrie dynamique repose sur le principe que le nez humain est le plus performant des détecteurs olfactométriques. Elle permet de déterminer la concentration en odeur exprimée en unité d'odeur européenne par mètre cube (u.o.E/m³) définie comme le taux d'odeurs qui, une fois évaporé dans 1 m³ de gaz neutre (dépourvu d'odeur) engendre un stimulus au sein d'un panel. La manière d'opérer consiste à présenter à un panel des dilutions d'un échantillon en commençant toujours par le plus dilué. Ce procédé se poursuit jusqu'au moment où le panel est capable de percevoir une odeur. L'olfactométrie dynamique se démarque des méthodes de GC-O et de nez électroniques, par le fait qu'elle est normalisée (EN 13 725) ce qui, confère davantage de rigueur à l'analyse. En revanche, l'olfactométrie dynamique se rapproche des nez électroniques dans le sens où il s'agit d'une stratégie permettant de caractériser l'odeur globale d'un produit c'est-à-dire qu'elle

ne permet pas de discriminer de façon individuelle les composés odorants comme le fait la GC-O [72,128]. Et, il semblerait qu'elle ne soit pas réellement employée afin d'étudier les produits d'origine marine.

1.2.3.5.4. Limites des méthodes de caractérisation de l'odeur des composés volatils

Bien que les méthodes présentées précédemment permettent d'apporter de nombreuses informations sur les composés odorants d'une matrice, celles-ci rencontrent tout de même des limites en plus de celles qui ont déjà pu être mises en avant précédemment. En effet, d'une part, tel que souligné, l'olfactométrie dynamique ne semble pas être employée pour l'étude des matrices d'origine marine et, l'usage des nez électroniques est quant à lui limité à certains usages spécifiquement. D'autre part, dans le cas de la GC-O, les composés odorants sont analysés de manière individuelle. Ainsi, il n'est pas possible d'avoir pleinement connaissance des éventuels effets d'hypo-additivité (effets de masquage) ou encore d'hyper-additivité (effets synergiques) entre ces derniers [72,125]. De plus, les composés volatils sont généralement présents dans des matrices complexes comprenant en plus de ces derniers, des constituants protéiques, lipidiques ou encore glucidiques. Tous ces constituants ne sont pas neutres à l'égard des composés volatils et, peuvent alors impacter leur disponibilité et, par voie de conséquence leur perception olfactive [129]. De ce fait, afin d'avoir pleinement connaissance du comportement des composés volatils dans le système matriciel dans lequel ils sont présents, l'étude des interactions pouvant exister entre les composés volatils et les autres constituants demeure indispensable.

1.3. Le comportement des composés volatils dans les matrices et impact sur leur perception olfactive

Avant d'aborder les interactions que peuvent entreprendre les composés volatils avec les autres constituants non-volatils, les propriétés physico-chimiques de ces derniers seront rapidement présentées afin d'apporter une meilleure compréhension relative aux paramètres influençant leur perception.

1.3.1. Propriétés physico-chimiques des composés volatils influençant leur comportement dans les matrices

Les propriétés physico-chimiques des composés volatils influencent grandement leur comportement au sein des matrices et, par voie de conséquence leur perception olfactive. En effet, ces propriétés physico-chimiques gouvernent notamment le degré et la nature des interactions que peuvent établir les composés volatils avec les autres constituants non-volatils.

D'une manière générale, la rétention des composés volatils par les autres constituants non-volatils est principalement influencée par leur volatilité ainsi que par leur hydrophobicité. Ces propriétés de volatilité et d'hydrophobicité des composés volatils sont caractérisées, dans la littérature, par les grandeurs suivantes [130–132]:

- Masse moléculaire, tel qu'il l'a été mentionné précédemment, les composés volatils ont généralement une masse moléculaire inférieure à 400 Da ;
- Pression de vapeur saturante, les composés dont la pression de vapeur saturante est supérieure à 10 Pa à 20°C sont considérés comme étant volatils ;
- Point d'ébullition, celui-ci correspond à la température à laquelle la pression de vapeur d'un liquide devient égale à celle de l'atmosphère. Plus le point d'ébullition d'un composé volatil sera faible, plus celui-ci sera volatil et aura une pression de vapeur élevée ;
- Hydrophobicité définie par le logarithme de P ($\log(P)$), cette grandeur correspond au logarithme du coefficient de partage liquide-liquide du composé volatil entre l'octanol et l'eau et, traduit l'affinité de ce dernier pour une phase organique. Plus la valeur du $\log(P)$ est élevée, plus le composé volatil est hydrophobe. En général, les composés volatils considérés comme étant hydrophobes sont ceux ayant un $\log(P)$ supérieur à 1 ;
- Coefficient de partage K entre la phase gazeuse et la matrice dans laquelle le composé volatil est présent, celui-ci correspond au rapport des concentrations du composé volatil dans la phase gazeuse et dans la matrice. Lorsque la valeur de K est inférieure à 1, ceci signifie que le composé volatil est davantage retenu par la matrice ;
- Solubilité dans l'eau qui, à l'image de l'hydrophobicité, évalue l'affinité du composé volatil pour les phases organique et aqueuse. Plus précisément, la solubilité fait référence à la concentration maximale du composé volatil dissous dans l'eau sous des conditions de température et de pression données.

Les études relatives aux interactions des composés volatils avec les constituants non-volatils utilisent principalement le coefficient de partage K afin d'évaluer le degré d'interactions mis en œuvre entre ces différents composés.

1.3.2. Interactions des composés volatils avec les constituants non-volatils

1.3.2.1. Nature des interactions mises en jeu

Les liaisons pouvant s'établir entre les composés volatils et non-volatils peuvent être de différentes natures. Il peut s'agir de liaisons dites de sorption incluant l'adsorption et l'absorption, d'interactions physico-chimiques ou encore de liaisons chimiques [133].

1.3.2.1.1. Adsorption et absorption

Les mécanismes d'adsorption et d'absorption sont spécifiques aux matrices renfermant une faible teneur en humidité. Majoritairement, ces mécanismes se produisent dans des matrices solides. D'une manière générale, les structures interne et externe des matrices sèches comprennent des pores étroits propices à la sorption des composés volatils. Lorsque la fixation des composés volatils se fait en surface de ces matrices à faible teneur en humidité, on parle d'adsorption. En revanche, lorsque la fixation des composés volatils s'accompagne de leur « dissolution » dans le volume même de ces matrices, on parle dans ce cas d'absorption [133].

1.3.2.1.2. Interactions physico-chimiques et liaisons chimiques

Les interactions physico-chimiques et les liaisons chimiques pouvant s'établir entre les composés volatils et non-volatils peuvent se produire dans les matrices indépendamment de leur teneur en humidité. D'une part, en ce qui a trait aux interactions physico-chimiques, celles-ci font référence à des liaisons non-covalentes de faible énergie (< 45 kJ/mol) et, de nature réversible. Celles-ci comprennent les forces de Van der Waals, les liaisons hydrogène, les interactions hydrophobes ainsi que les liaisons électrostatiques. D'autre part, les liaisons chimiques impliquent un transfert d'électrons entre deux atomes. Celles-ci se distinguent des interactions physico-chimiques de par leur nature irréversible et de par les plus hautes valeurs d'énergie mises en jeu (>100 kJ/mol) [133].

1.3.2.2. Principaux constituants non-volatils impliqués dans les interactions avec les composés volatils

Tel qu'il l'a été mentionné, les lipides, les glucides ainsi que les protéines sont les constituants non-volatils susceptibles d'établir des interactions avec les composés volatils et, par voie de conséquence, d'influencer leur rétention ou, a contrario, leur libération. Dans la mesure où l'hydrolysate de laitance de hareng étudié dans le cadre de ce projet contient principalement des représentants de natures lipidique et protéique, l'intérêt sera donc essentiellement porté à ces deux catégories de composés non-volatils. Il convient tout de même de souligner qu'un tel hydrolysate renferme également une quantité importante d'acides nucléiques constitués de ribose. Toutefois, la littérature ne faisant aucune mention des interactions qu'est susceptible d'entreprendre ce sucre lorsque celui-ci est présent dans une telle structure, cet aspect ne sera ici pas abordé.

1.3.2.2.1. Lipides

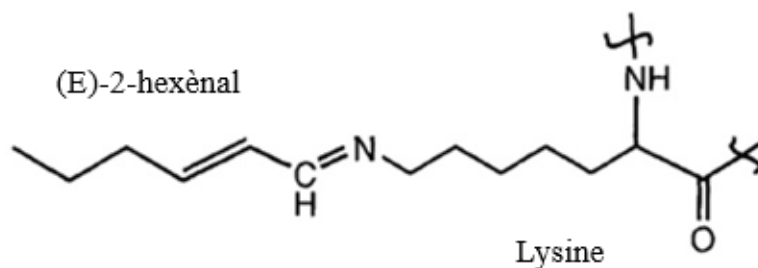
La majorité des représentants lipidiques sont de nature hydrophobe et non-polaire. Les lipides sont capables de lier les composés volatils par des interactions physico-chimiques de faible énergie et réversibles telles que les forces de Van der Waals et par des interactions hydrophobes [133]. Parmi les constituants non-volatils, les lipides sont ceux ayant le plus d'influence sur la rétention des composés volatils du fait de leur nature majoritairement hydrophobe [129,133]. Généralement, la longueur de la chaîne carbonée des composés volatils est positivement corrélée à leur degré de rétention par les représentants lipidiques. Ceci est particulièrement vrai pour les aldéhydes aliphatiques, les méthylcétones et les esters. Cette augmentation du degré de rétention des composés volatils par les représentants lipidiques s'explique par l'accroissement de leur caractère hydrophobe et, donc, lipophile, lié à l'augmentation de leur longueur de chaîne [134–136]. À cet effet, il est admis que plus un composé volatil est hydrophobe, plus la propension de ce dernier à être retenu par des représentants lipidiques est conséquente [137]. En outre, du fait de l'impact des lipides sur la rétention des composés volatils, toute modification du contenu lipidique d'une matrice influence grandement le coefficient de partage de ces derniers. Tel que mentionné précédemment, le coefficient de partage se définit comme le ratio entre la concentration du composé volatil dans la phase gazeuse et la concentration de ce même composé dans la matrice dans laquelle il est présent. À ce propos, dans leur étude, Seuvre *et al.* (2006) ont constaté que l'ajout de trioléine, un triglycéride composé de trois chaînes d'acide oléique reliées à une molécule de glycérol, dans une matrice s'accompagnait d'une diminution du coefficient de partage des composés volatils que sont l'acétate d'éthyle, l'hexanoate d'éthyle, le 2-pentanone, le diacétyl ainsi que le (E)-2-hexène. Ceci démontre alors le pouvoir de

rétenion exercé par la molécule lipidique sur les composés volatils ciblés [138]. Également, Roberts *et al.* (2003) ont démontré dans leur étude que la nature du représentant lipidique avait un impact significatif sur la rétenion des composés volatils. À cet effet, la matière grasse laitière contenant davantage d'acides gras saturés, retient de façon beaucoup plus conséquente les composés volatils que sont le 1-octèn-3-ol, le 2-pentylfuran ou le limonène que l'huile de coco comprenant une teneur en acides gras polyinsaturés supérieure [139]. L'hydrolysat de laitance de hareng étudié dans le cadre de ce projet contient une quantité importante d'acides gras polyinsaturés. D'après ces résultats, il semblerait donc que ces derniers seraient capables d'interagir avec les composés volatils mais dans une propension moindre comparativement à leurs représentants saturés.

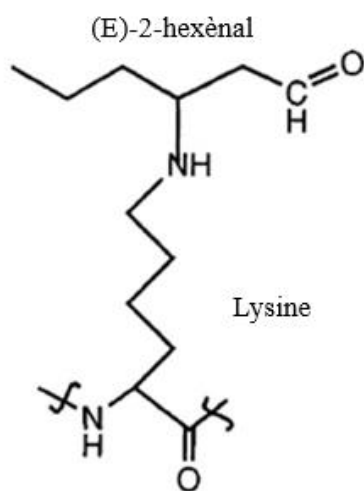
1.3.2.2.2. Protéines

A l'image des lipides précédemment discutés, les protéines ont également la capacité d'établir des interactions avec les composés volatils. De par leur importance dans le domaine alimentaire, les protéines les plus étudiées, à cet effet, sont les protéines laitières et, plus particulièrement les caséines et la β -lactoglobuline [140–143], l'albumine de l'œuf ou l'albumine de sérum bovin [144,145], les protéines de soja [143,146,147], ou encore les protéines des produits carnés [148–151]. D'une manière générale, les constituants protéiques présentent la particularité de lier les composés volatils non seulement par le biais de liaisons physico-chimiques réversibles, mais aussi par le biais de liaisons covalentes irréversibles [129,133]. D'une part, en ce qui concerne les liaisons réversibles, dans la majorité des cas, les composés volatils se lient aux protéines par le recours à des interactions hydrophobes. En effet, la plupart des protéines arborent des poches hydrophobes représentant alors des sites de rétenion préférentiels pour les composés volatils. En plus des interactions hydrophobes, certaines classes de molécules telles que les alcools sont connues pour interagir avec les protéines par le recours à des liaisons hydrogène [57]. D'autre part, en ce qui a trait aux liaisons covalentes de nature irréversible, celles-ci impliquent préférentiellement les groupements amines (NH_2) et sulfhydriles (SH) des acides aminés et les groupements carbonyle (C=O) et sulfhydriles (SH) des composés volatils. Le mécanisme le plus rapporté et le plus connu est la formation d'une base de Schiff. Une base de Schiff résulte de la réaction entre le groupement carbonyle d'un aldéhyde et le groupe ϵ -amino de la lysine lorsque celui-ci est présent sous sa forme $-\text{NH}_2$ et conduit à la formation d'une imine caractérisée par la présence dans sa structure d'une liaison C=N (Figure 1-11). Les autres types de liaisons covalentes rapportés font référence à l'addition de Michael (Figure 1-11) et aux ponts disulfures [152–154]. Parmi toutes les classes de la chimie organique, les aldéhydes sont les plus réactifs à des fins de formation de liaisons covalentes avec les constituants protéiques [152].

Également, du fait de leur capacité à établir des interactions de nature tant réversible qu'irréversible, la classe des aldéhydes est celle étant la plus susceptible d'être retenue par les protéines [57].



(a)



(b)

Figure 1-11. (a) Base de Schiff résultant de la réaction entre le (E)-2-hexenal et la lysine (b) Addition de Michael entre le (E)-2-hexenal et la lysine (tiré de Meynier et al. (2004) [154])

Contrairement aux liaisons impliquant les composés volatils aux divers représentants lipidiques, les liaisons avec les molécules protéiques sont grandement impactées par différents paramètres. Parmi les paramètres ayant le plus d'impact, sont retrouvés : la nature de la protéine et la concentration à laquelle cette dernière est présente [57,151,153,155,156], la nature du composé volatil et également la concentration à laquelle celui-ci est présent [57,153,157–161], la force ionique du milieu [149,158,161–163], le pH [57,148,153,164,165] ainsi que la température [57,151,153,161,166,167]. L'impact de ces paramètres sur les différentes interactions mises en jeu est discuté plus en détails dans les paragraphes qui suivent.

1.3.2.2.2.1. Effet de la nature et de la concentration protéique

La nature de la protéine impliquée influence le nombre ainsi que le type d'interactions qui seront mis en jeu avec les composés volatils. Par exemple, ces derniers étant essentiellement hydrophobes, plus une protéine contiendra d'acides aminés hydrophobes, plus celle-ci sera susceptible d'établir des interactions hydrophobes avec les composés volatils et donc d'en augmenter leur rétention [129]. À cet effet, les caséines riches en proline et la β -lactoglobuline présentant une poche hydrophobe constituée de 11 acides aminés répartis autour d'un résidu tryptophane, ont déjà démontré une haute propension à retenir les composés volatils [129,153,168]. Dans leur étude portant sur l'analyse des interactions entre divers représentants cétoniques (2-pentanone, 2-heptanone, 2-octanone et 2-nonanone) et l'actine G de la carpe (protéine myofibrillaire), Lou *et al.* (2017) ont également remarqué que l'hydrophobicité de cette protéine globulaire était un facteur clef influençant de manière significative la rétention de ces composés cétoniques [155]. Également, les protéines contenant une teneur importante en lysine, en cystéine ou en arginine présentent une capacité importante de fixation des composés volatils en raison du fait que ces groupements peuvent être impliqués dans des interactions tant réversibles qu'irréversibles [57]. En outre, un accroissement de la concentration en protéines s'accompagne, de manière générale, d'un accroissement de la rétention des composés volatils. Ceci peut s'expliquer par la création d'un réseau protéique plus dense conduisant au piégeage des composés volatils au sein de ce dernier (Figure 1-12) [156]. En revanche, d'autres auteurs contredisent cette théorie. Par exemple, Pérez-Juan *et al.* (2008) ont observé, dans leur étude, qu'une augmentation de la teneur en actine et en actomyosine s'accompagnait d'une libération plus accrue de composés volatils aldéhydiques. Il semblerait que dans ce cas, se produisent de manière préférentielle des interactions protéines-protéines lorsque celles-ci sont présentes à haute concentration au détriment des interactions protéines-composés volatils et, que le réseau de protéines qui en résulte ne conduise pas au piégeage des substances volatiles [151]. Toutefois, tel que mentionné, la nature du constituant protéique impliqué a un impact non négligeable sur les interactions avec les composés volatils permettant alors d'expliquer la raison pour laquelle des contradictions peuvent être observées dans la littérature. De plus, la nature des composés volatils, dont l'effet sera discuté plus en détails ci-après, impacte également la nature ainsi que la propension des interactions mises en jeu. Également, les différents auteurs n'ont pas systématiquement eu recours aux mêmes méthodes afin d'analyser ces interactions. Ces différents points peuvent alors expliquer la divergence soulignée concernant les tendances observées.

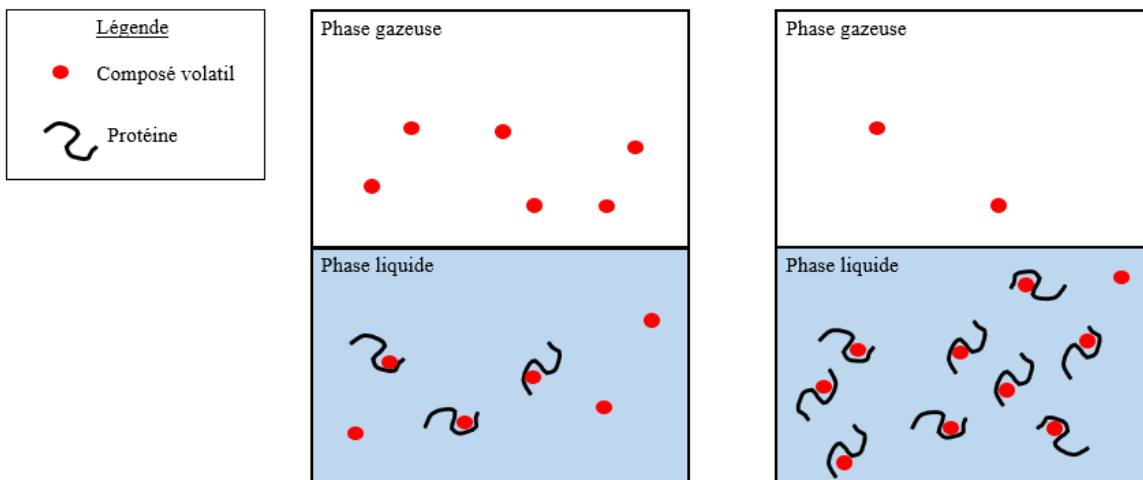


Figure 1-12. Représentation schématique de l'impact de la concentration protéique sur la rétention des composés volatils

1.3.2.2.2. Effet de la nature et de la concentration du composé volatil

Comme il l'a été indiqué précédemment, la nature du composé volatil de même que la concentration à laquelle celui-ci est présent dans la matrice d'intérêt influencent grandement les interactions avec les protéines. Plus précisément, la classe à laquelle appartient le composé volatil impacte ses propriétés physico-chimiques. À cet effet, bien que de caractère globalement hydrophobe, les composés volatils appartenant à la famille des alcools seront davantage polaires, de par la présence d'un groupement hydroxyle, que les hydrocarbures et, ainsi leurs interactions avec les protéines ne se résumeront pas qu'à des interactions de nature hydrophobe. En outre, les aldéhydes présentent la particularité de pouvoir établir en plus des interactions réversibles, des liaisons covalentes de nature irréversible ce qui les rend davantage susceptibles d'être fixés par les constituants protéiques [129]. Toutefois, des exceptions à cette tendance existent tout de même. En effet, lorsque Zhou *et al.* (2006) ont étudié la rétention de composés volatils appartenant à différentes classes par des protéines de soja, ils ont pu mettre en avant que les acides carboxyliques et les dicétones présentaient une capacité de fixation supérieure aux aldéhydes [158]. Ceci démontre alors la complexité de ces interactions et, bien que certaines tendances puissent être dégagées, une analyse détaillée de la matrice demeure toujours indispensable. Également, tel qu'il l'a été mentionné pour les lipides, la longueur de la chaîne carbonée des composés volatils représente également un point déterminant dans les interactions mises en jeu avec les protéines. Il a ainsi été constaté que l'affinité des composés volatils pour les sites de fixation hydrophobes présents au niveau des chaînes protéiques était positivement corrélée à leur longueur de chaîne. De plus, pour une classe de la chimie organique donnée, la force de liaison

augmente en fonction de la longueur de la chaîne carbonée [153]. Toutefois, dans la littérature, des résultats contredisant cette tendance sont tout de même mentionnés. En effet, Gu *et al.* (2020) ont remarqué dans leur étude que l'affinité de la myosine pour trois aldéhydes, en l'occurrence l'heptanal, l'octanal et le nonanal, était négativement corrélée à leur longueur de chaîne carbonée [159]. Ceci pourrait sans doute s'expliquer par le fait qu'à partir d'une certaine longueur de chaîne carbonée, de l'encombrement stérique peut être engendré ce qui, peut conduire à diminuer l'affinité de ces molécules pour les constituants protéiques. De plus, il a été constaté que les composés aldéhydiques insaturés présentaient une capacité de liaison supérieure aux saturés. Ceci peut s'expliquer par le fait que l'insaturation présente au niveau de la liaison double offre l'opportunité de former des adduits de Michael avec les résidus de lysine et d'histidine présents au niveau des chaînes protéiques ce qui, augmente leur propension d'interaction avec les constituants protéiques [57]. En ce qui a trait aux cétones plus particulièrement, Shen *et al.* (2019) ont constaté que leur capacité à interagir avec les protéines myofibrillaires dépendait majoritairement du nombre et de la position du groupement carbonyle dans la chaîne carbonée, du poids moléculaire et de la polarité du composé cétonique. À cet effet, il a été rapporté que la capacité de liaison du 2,3-pentanedione était plus conséquente que celle du 2-pentanone et du 3-pentanone en raison de la présence de deux groupements carbonyles dans la structure du 2,3-pentanedione. Également, la rétention du 2-octanone par les protéines myofibrillaires était plus conséquente que celle du 2-pentanone [160]. Damodaran et Kinsella (1983) avaient déjà constaté dans leur étude que la fixation des composés cétoniques à l'actomyosine était beaucoup plus conséquente lorsque la longueur de chaîne carbonée augmentait. Ainsi, la constante de fixation de la nonanone à l'actomyosine était plus de 5 fois supérieure à celle de la 2-octanone [161]. D'une manière générale, les données rapportées dans la littérature semblent indiquer que la force de liaison des composés volatils aux protéines suit la logique suivante : aldéhydes > cétones > alcools [153]. Finalement, concernant l'impact de la concentration du composé volatil, il semblerait que plus un composé volatil est présent à haute concentration dans une matrice renfermant des protéines, moins celui-ci sera susceptible d'être retenu. Ceci s'explique par la saturation des sites de fixation présents au niveau des chaînes protéiques [157].

1.3.2.2.2.3. Effet de la force ionique

La présence de sels impacte grandement la force ionique du milieu et, a fortiori, la capacité des protéines à entreprendre des interactions avec les composés volatils. Généralement, la présence de sels provoque une libération des composés volatils au sein de l'espace de tête du système dans lequel ils sont présents ce qui se traduit par une augmentation de leur coefficient de partage (Figure 1-13) [129,149]. Cet accroissement de la libération des composés volatils en présence de sels est

décrit par l'effet « salting out » par extrapolation avec le comportement des protéines en présence de sels. En effet, à faible force ionique, lorsque la concentration en sels augmente, les protéines interagissent de manière préférentielle avec les sels et, ceci a pour conséquence l'amélioration de leur solubilité. Cette amélioration de la solubilité des protéines est décrite par l'effet « salting in ». Toutefois, les interactions préférentielles protéines-sels vont conduire à réduire la disponibilité des sites de fixation des composés volatils au niveau de la structure protéique, mais aussi, à réduire les zones de piégeage de ces derniers au sein des réseaux de protéines expliquant alors leur libération plus marquée. Ainsi, d'un point de vue composés volatils, on parlera d'effet « salting out ». Cet effet « salting out » des composés volatils dépend non seulement de la nature du sel employé, mais aussi de la concentration à laquelle celui-ci est ajouté. Par exemple, il a pu être constaté que les sels de chlorure de sodium (NaCl) ainsi que de chlorure de potassium (KCl) produisaient une augmentation de la concentration de divers aldéhydes (2-méthylbutanal, 3-méthylbutanal, hexanal) dans l'espace de tête de solutions modèles contenant des protéines de porc [162]. En revanche, le recours au chlorure de magnésium (MgCl₂) ou encore au chlorure de calcium (CaCl₂) ne conduisait qu'à une très faible augmentation de la concentration des composés volatils dans l'espace de tête du système étudié [126,162]. Il convient de souligner qu'en raison de leur capacité à provoquer la libération des composés volatils, certains protocoles d'analyse comprennent une étape d'ajout de sels afin d'en favoriser leur étude [163]. Néanmoins, lorsque la force ionique du milieu devient trop élevée, le phénomène inverse se produit et une rétention des composés volatils sera visible. On parlera dans ce cas d'effet « salting in » d'un point de vue composés volatils et, d'effet « salting out » d'un point de vue protéines. En effet, lorsque la concentration en sels devient trop conséquente, les interactions protéines-protéines sont favorisées en raison de la mobilisation de l'eau présente dans la matrice d'intérêt afin de procéder à la solvatation des sels. Les composés volatils peuvent donc se voir piéger au sein des réseaux de protéines sans pour autant interagir de manière spécifique avec les sites de fixation présents au niveau des chaînes protéiques. À cet effet, Damodaran et Kinsella (1983) ont rapporté dans leur étude une fixation de la 2-nonanone à l'actomyosine beaucoup plus conséquente lorsque les protéines étaient sous forme d'agrégats. Les auteurs ont alors attribué ces résultats à la rétention non spécifique du composé volatil au sein du réseau protéique d'actomyosine sous forme agrégée [161]. La figure 1-13 résume de façon schématique l'effet des sels et de leur concentration sur la rétention des composés volatils par les constituants protéiques.

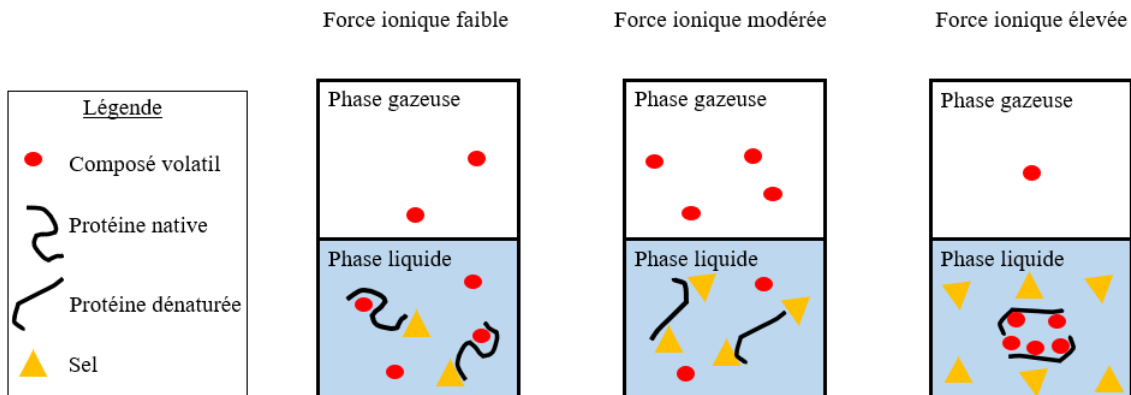


Figure 1-13. Représentation schématique de l'impact de la force ionique sur la rétention des composés volatils par les représentants protéiques

1.3.2.2.2.4. Effet du pH

Le pH possède un impact majeur sur la disponibilité des composés volatils. En effet, le pH et plus précisément, les variations de pH ont pour effet de conduire à des modifications conformationnelles des protéines ainsi qu'à des modifications des charges situées sur les chaînes latérales des acides aminés présents au sein de la séquence protéique [129,148]. D'une manière générale, il est admis qu'à des valeurs de pH extrêmes (hautement acides ou hautement basiques), les chaînes protéiques ont tendance à être dénaturées et, il en résulte une libération accrue des composés volatils [57]. En effet, sous des conditions de pH extrêmes, les interactions protéines-protéines seraient favorisées ce qui, réduirait l'accès des composés volatils aux sites de fixation présents au niveau des chaînes protéiques. De la même manière, à un pH proche du pI de la protéine, il en résulte généralement une baisse de la capacité de la dite protéine à lier les composés volatils en raison également de la tendance plus accrue des protéines à interagir entre elles [153]. Toutefois, dans la littérature, des tendances contraires ont déjà été observées pour les valeurs de pH extrêmes et celles proches du pI des protéines. En effet, tel que précisé dans le paragraphe précédent traitant de la force ionique, lorsque les interactions protéines-protéines sont favorisées, les réseaux protéiques nouvellement formés peuvent aussi être responsables du piégeage des composés volatils. De la même manière, dans leur étude Wang et Arntfield (2015) ont observé une rétention maximale de composés cétoniques, en l'occurrence la 2-hexanone, la 2-heptanone et la 2-octanone, par les protéines de pois à pH 5, valeur de pH proche de leur pI. Les auteurs ont expliqué ces résultats par une accessibilité plus conséquente des composés volatils aux sites de fixation présents à la surface des protéines agrégées conduisant alors à une rétention plus marquée des représentants cétoniques [164]. Également, outre les valeurs de pH extrêmes et les valeurs de pH avoisinant le pI des protéines, il peut être estimé que toute variation de pH, même celle s'échelonnant sur une gamme étroite, peut

impacter la rétention des composés volatils par les constituants protéiques. En effet, dans leur étude Gianelli *et al.* (2003) ont démontré que la rétention de l'hexanal et du méthional par la carnosine, dipeptide retrouvé dans les produits carnés, était impactée de manière significative sur une échelle de pH variant entre 5 et 6.5 [148]. Également, Yang *et al.* (2017) se sont intéressés à la rétention de composés appartenant aux classes des alcools, aldéhydes, cétones et esters par des protéines myofibrillaires sur une gamme de pH entre 5 et 8. Toutes les classes de la chimie organique ici étudiées n'ont pas été impactées de manière identique par les variations de pH. En effet, la rétention des composés appartenant au groupe des cétones et des alcools a significativement diminué lorsque le pH a augmenté tandis que la rétention des aldéhydes et des esters a quant à elle augmenté. La diminution de la rétention des cétones et des alcools a été attribuée à un changement de conformation des protéines myofibrillaires résultant en une exposition réduite des sites de fixation hydrophobes auxquels ces composés se fixaient préférentiellement. A contrario, ceci a contribué à favoriser la fixation des aldéhydes et des esters. Concernant le groupe des alcools, ces derniers sont susceptibles d'entreprendre tant des interactions de nature hydrophobe que des liaisons hydrogène du fait de la présence du groupement hydroxyle (OH) dans leur structure. Toutefois, il semblerait que lorsque le pH augmente de 5 à 8, c'est principalement leur potentiel à établir des interactions hydrophobes qui prévaut puisque leur capacité à interagir avec les protéines myofibrillaires a diminué [165]. Ainsi, selon les protéines impliquées et les composés volatils ciblés, l'impact du pH sur les interactions entre les constituants protéiques et volatils peut varier. À cet effet, tel que souligné précédemment, bien que des tendances puissent être tirées en se basant sur les données de la littérature, il demeure toujours indispensable de procéder à l'analyse de la matrice étudiée.

1.3.2.2.2.5. Effet de la température

Au regard de l'impact de la température sur les interactions entre les composés volatils et les protéines, la littérature fait également état de tendances contradictoires. En effet, deux mécanismes opposés ont été jusqu'à présent mis en avant. D'une part, il est admis que lorsque la température est augmentée, la dénaturation des protéines s'en voit accrue ce qui conduit à exposer davantage les sites de fixation présents au niveau des chaînes protéiques aux composés volatils résultant alors en une rétention beaucoup plus conséquente. Damodaran et Kinsella (1983) ont étudié la fixation de la 2-nonanone à l'actomyosine à 0 et 25°C. Ils ont constaté que le degré de fixation du composé cétonique était drastiquement accru à 25°C en raison de l'exposition plus conséquente de sites de fixation hydrophobes de l'actomyosine qui se voyaient enfuis à 0°C [161]. D'autre part, il peut également être admis que lorsque les chaînes protéiques sont dénaturées, il en résulte une agrégation de ces dernières et, en raison des interactions privilégiées entre protéines, les composés volatils s'en voient libérés

[57,153]. Ces tendances contradictoires peuvent s'expliquer par les différences en termes de composés volatils, de matériel protéique et de température ciblés par les différentes études. De manière générale, il peut être admis que les interactions entre les composés volatils et les protéines sous des conditions de hautes températures dépendent principalement de la nature du composé volatil (la classe de la chimie organique à laquelle il appartient), du représentant protéique étudié et du traitement thermique en question (préchauffage de la protéine en amont du chauffage du mélange protéine – composés volatils ou chauffage directement du mélange) [153]. Ainsi, Wang et Arntfield (2015) ont constaté que les interactions entre les composés aldéhydiques et les protéines de pois et de colza étaient accrues au cours d'un chauffage jusqu'à 95°C tandis que la rétention des composés cétoniques se voyait diminuer dans des conditions similaires [167]. Quant à eux, Guo *et al.* (2019) ont constaté que le préchauffage de protéines de soja à 80°C engendrait des modifications conformationnelles permettant ensuite d'accroître le nombre de sites de liaisons secondaires au niveau de la structure de ces protéines et, par voie de conséquence, d'augmenter les interactions avec des alcools terpéniques tels que le linalool et le geraniol [166]. Également, les basses températures sont connues pour venir impacter la rétention des composés volatils. À ce propos, il a pu être constaté que la capacité de l'actomyosine à retenir certains représentants aldéhydiques tels que l'hexanal ou le méthional était réduite suite à un entreposage aux températures de congélation. Cette modification de la capacité de rétention de ces composés a été attribuée à un changement conformationnel de l'actomyosine [151].

1.3.3. Impact des constituants non-volatils sur la perception olfactive des composés volatils

1.3.3.1. Impact des lipides

Les composés volatils étant hydrophobes à des degrés différents, les lipides ont un effet beaucoup plus marqué sur leur libération et, a fortiori, sur leur perception que n'ont les autres constituants matriciels. D'une manière générale, il peut être estimé que l'augmentation du contenu en lipides d'une matrice conduit à une réduction de l'intensité odorante de celle-ci. Toutefois, dans le domaine alimentaire, la tendance actuelle est plutôt à la réduction de la teneur en matières grasses présentes dans les denrées alimentaires ce qui, représente un réel défi d'un point de vue formulation [129]. À cet effet, il a pu être constaté que la cinétique de libération des composés volatils ainsi que le profil aromatique perçu étaient grandement impactés par la réduction de la teneur en matières grasses. Ceci a été mis en évidence notamment dans le yaourt où il a été démontré que la libération des composés volatils d'un produit contenant une faible quantité de matières grasses était beaucoup

plus rapide et intense, mais beaucoup moins persistante dans le temps comparativement à un yaourt de formulation traditionnelle [169]. Également, tel qu'il l'a été mentionné précédemment, le caractère saturé ou insaturé du constituant lipidique impacte également la rétention des composés volatils. À cet effet, toute modification du constituant lipidique employé dans la formulation d'un produit se doit d'être étroitement considérée puisque ceci influencera grandement la perception olfactive de ce dernier.

1.3.3.2. Impact des protéines

D'une manière générale, il est admis que plus un milieu est riche en protéines, plus celui-ci aura tendance à retenir les composés volatils et donc à limiter l'intensité odorante perçue. Ceci a conduit à considérer le recours aux constituants protéiques à des fins de préservation ou de modulation de l'odeur de certaines matrices [129]. D'une part, la capacité des protéines à établir des interactions de nature réversible avec les composés volatils peut être perçue comme une avenue d'intérêt afin d'éviter toute perte majeure d'odeur d'une matrice jusqu'à sa consommation. En effet, en raison de la nature réversible des interactions, les composés volatils pourront alors être relâchés au moment de la consommation. D'autre part, ces interactions réversibles peuvent également être considérées comme une solution afin de limiter la perception d'odeurs déplaisantes pouvant survenir dans certaines matrices. Plus précisément, des concentrés de protéines laitières ont déjà pu démontrer leur performance à limiter les odeurs déplaisantes dans les produits à haute teneur en acides gras polyinsaturés en restreignant la libération des composés volatils issus de l'oxydation de ces molécules [110]. Parmi les protéines laitières, celle qui semble présenter la plus importante capacité de rétention des composés volatils est la β -lactoglobuline. L'addition d'un pourcent de cette protéine réduirait considérablement l'intensité odorante de certains composés cétoniques [170]. Plus récemment, Gu *et al.* (2020) ont utilisé cette stratégie afin de limiter la perception olfactive de composés volatils responsables d'odeurs déplaisantes dans le surimi [159]. Or, les interactions protéines-composés volatils dépendent de nombreux paramètres, comme discuté précédemment. De ce fait, la capacité des protéines à moduler la perception odorante des composés volatils se voit elle-aussi dépendante de ces mêmes paramètres. Toutefois, les liaisons covalentes pouvant s'établir entre les groupements carbonyles des aldéhydes et la fonction amine libre des acides aminés présents au sein de la chaîne protéique font exception à cela. Ainsi, celles-ci apparaissent davantage intéressantes à considérer dans une problématique relative à la modulation de l'odeur perçue d'une matrice [129].

1.3.4. Analyses sensorielles et perception olfactive globale

Bien que les outils analytiques soient de précieux alliés pour l'analyse des composés volatils, l'appréciation complète de l'odeur d'une matrice ne peut se faire sans le recours à des analyses sensorielles.

1.3.4.1. Définition

D'une manière générale, les analyses sensorielles font référence au développement ainsi qu'à l'utilisation de divers outils permettant de mesurer et d'évaluer les caractéristiques d'un échantillon en utilisant un ou plusieurs sens parmi lesquels figurent l'ouïe, l'odorat, le toucher, le goût et la vue [171]. Dans le cadre de ce projet, seul le sens de l'odorat est exploité. Les paragraphes qui suivent expliciteront brièvement les méthodes d'analyses sensorielles actuellement disponibles.

1.3.4.2. Méthodes employées pour les analyses sensorielles

Selon la finalité recherchée, il existe trois grands types de méthodes employées pour les analyses sensorielles : les méthodes discriminatives, les méthodes descriptives et les méthodes hédoniques. Les méthodes discriminatives permettent de mettre en avant des différences au niveau des échantillons évalués tandis que les méthodes descriptives permettent d'apporter des renseignements quant à la nature de ces différences et de les quantifier. Quant à elles, les méthodes hédoniques sont davantage axées sur le consommateur et ses préférences [172,173].

1.3.4.2.1. Méthodes discriminatives

Les méthodes discriminatives sont employées lorsque les différences entre les échantillons à tester sont mineures et lorsque la nature de ces différences n'est pas nécessairement connue. Plus précisément, les méthodes discriminatives consistent à soumettre à un panel des échantillons parmi lesquels figurent généralement des échantillons identiques et un échantillon différent. Il est alors simplement demandé aux membres du panel d'identifier l'échantillon qui diffère des autres. Ce type de méthodes est considéré comme étant à « choix forcé » puisqu'ici une réponse est imposée aux membres du panel. Parmi les méthodes discriminatives, le test triangulaire est le plus connu et le plus utilisé. Dans ce cas, trois échantillons sont présentés aux membres d'un panel dont deux sont identiques. Chaque membre du panel doit indiquer l'échantillon qu'il perçoit comme étant différent. Ce type de méthodes demeure relativement simple à mettre en œuvre et à interpréter et ne nécessite pas d'avoir recours à un panel entraîné. Toutefois, malgré ces avantages, certains inconvénients peuvent être soulignés. En effet, lors d'un test triangulaire, il a déjà été rapporté que les membres du

panel peuvent éprouver de la difficulté à identifier l'échantillon qui diffère des autres ne sachant pas sur quels critères de différence se reposer. De plus, le recours à cette procédure sensorielle implique que seuls deux types d'échantillon peuvent être analysés simultanément ce qui est assez limitant [171,172]. Ainsi, afin de pallier cela, il est possible d'avoir recours à un test discriminatif du type « regroupement » n'impliquant aucune contrainte quant au nombre d'échantillons pouvant être analysés simultanément. Dans ce cas, les panélistes conviés à l'étude doivent classer les échantillons selon leurs similitudes et leurs différences en ayant recours à leurs propres critères de décision. Ainsi, deux échantillons perçus comme similaires doivent être classés dans le même groupe tandis que deux échantillons sensiblement différents doivent être classés dans deux groupes distincts. Lorsque N échantillons sont étudiés, il est demandé aux panélistes de réaliser entre 2 et N-1 groupes [174]. Récemment, cette stratégie a été appliquée à des matrices de diverses origines telles que des fromages ou encore des vins et cidres [175–177].

1.3.4.2.2. Méthodes descriptives

Les méthodes descriptives apportent des précisions quant à la nature des différences existant entre des échantillons tout en les quantifiant. Ces méthodes sont employées lorsque les différences entre les échantillons évalués sont facilement perceptibles [172]. Parmi les méthodes descriptives, sont distinguées les méthodes évaluant un seul critère de celles en évaluant plusieurs. Les méthodes basées sur un seul critère de description sont des méthodes de classement pour lesquelles des échantillons sont classés par ordre d'intensité croissante ou décroissante selon un critère préétabli. Ce genre de méthode est relativement simple à mettre en œuvre et ne nécessite pas d'avoir recours à un panel d'experts. Toutefois, le principal inconvénient d'une telle démarche repose sur le fait que le simple classement des échantillons ne permet de connaître l'ampleur des différences entre ces derniers [173]. Concernant les méthodes descriptives évaluant plusieurs critères simultanément, l'analyse descriptive quantitative (de l'anglais Quantitative Descriptive Analysis, QDA) est sans doute la méthode la plus couramment employée. Cette méthode repose sur la sélection de descripteurs permettant de rendre compte le plus justement possible des caractéristiques du produit. Pour chacun de ces descripteurs, il sera ensuite demandé à un panel d'en mesurer l'intensité perçue. Ceci permettra de construire le profil sensoriel du produit étudié en se basant sur l'ensemble des descripteurs quantifiés. L'analyse descriptive quantitative requiert un panel d'experts dont l'entraînement demeure un prérequis indispensable [171].

1.3.4.2.3. Méthodes hédoniques

Tel que mentionné précédemment, les méthodes hédoniques s'appuient davantage sur l'appréciation des consommateurs. Au travers de telles méthodes, la notion de « plaisir » est donc plus étroitement considérée contrairement aux méthodes discriminatives et descriptives. En outre, les méthodes hédoniques font majoritairement appel à des sujets non entraînés. En pratique, de telles méthodes utilisent des échelles de catégories qui varient de la mention « aime beaucoup » à la mention « n'aime pas du tout » en passant par des mentions plus intermédiaires telles que « neutre ». Ainsi, selon leur degré d'appréciation, les membres du panel choisiront l'une ou l'autre des mentions [173].

1.4. Méthodes de désodorisation des produits d'origine marine

Une fois les composés volatils odorants ciblés et leur comportement dans la matrice appréhendé, il est possible de mettre en œuvre l'étape de désodorisation. Les méthodes de désodorisation appliquées aux produits d'origine marine rapportées dans la littérature sont globalement de trois ordres : biologiques, chimiques et physiques. Les paragraphes qui suivent se consacreront à développer plus en détails ces méthodes.

1.4.1. Méthodes biologiques

Les procédés biologiques appliqués à la désodorisation des produits d'origine marine rapportés dans la littérature mettent en jeu des microorganismes, principalement des levures et des bactéries. À cet effet, il a déjà pu être constaté que l'ajout d'un extrait de levure commerciale à un hydrolysate de palourde sous des conditions de traitement judicieusement choisies (traitement de 30 min à 45°C à une concentration d'extrait de levure de 7 mg/mL), permettait d'en modifier le profil aromatique. Plus précisément, un tel traitement a conduit à une réduction significative estimée entre 40 et 98% du contenu de certains aldéhydes tels que l'hexanal, l'heptanal, le 2,4-heptadienal, réputés pour l'odeur déplaisante qu'ils véhiculent. A contrario, le contenu de certains composés odorants tels que le benzaldéhyde, le 2-éthylfuran, le 2-pentylfuran ou encore la 2,3-octanedione a augmenté tandis qu'aucun effet n'a été observé sur la TMA. Ainsi, ces résultats semblent suggérer que l'extrait de levure ici employé n'aurait qu'une action limitée. Qui plus est, le mécanisme d'action de cet extrait de levure n'a pas été élucidé ce qui, complexifie le recours à ce traitement [12]. Dans leur étude, Pan *et al.* (2018) ont également eu recours à une levure, *Saccharomyces cerevisiae*, (traitement à 35°C pendant 1h avec 1% de levure (*m/v*)) afin de procéder à la désodorisation de la gélatine provenant de la peau du poisson *Takifugu rubripes*. Dans ce cas, bien qu'un tel traitement ait permis de réduire le contenu de tous les aldéhydes ciblés en l'occurrence, l'hexanal, le nonanal, le décanal, le (E)-

dodécenal et le tétradécenal, ce traitement s'est également accompagné de la formation de composés volatils odorants qui, n'étaient pas présents dans l'hydrolysats initial (avant traitement). Les composés nouvellement formés étaient des alcools et des acides [116]. Un constat similaire a été réalisé dans l'étude de Li *et al.* (2020) portant sur la désodorisation d'un hydrolysats de Tilapia par un extrait de levure commerciale [178]. Dans la mesure où l'objectif d'un traitement de désodorisation consiste à éliminer les composés volatils odorants, la formation ici de nouveaux composés vient alors affecter grandement la performance du procédé mis en œuvre et semble indiquer que le recours aux levures ne peut être considéré comme une avenue d'intérêt dans un tel contexte.

En plus du recours à des levures, la littérature rapporte également l'usage de bactéries. Plus précisément, la bactérie *Staphylococcus xylosus* a été employée afin d'améliorer l'odeur d'une sauce de poisson commerciale. Après une période d'incubation de 24 jours à 32°C, il a été constaté que la concentration de certains composés volatils malodorants tels que la 2-éthylpyridine et le trisulfure de diméthyle a été réduite d'au moins 50% dans la sauce de poisson traitée. Néanmoins, ce traitement n'a eu aucun effet sur la teneur en 2-méthylbutanal, 2-pentanone et méthional de la sauce de poisson tandis que le contenu du 3-méthyl-1-butanol et de la 2,6-diméthylpyrazine a connu une augmentation drastique [94]. Ainsi, ce second exemple suggère lui aussi que les microorganismes n'influenceraient le profil aromatique que de façon limitée. Également, dans ce cas, la durée conséquente d'un tel traitement, ici en l'occurrence de 24 jours, peut représenter un frein majeur quant à son utilisation. Plus récemment, le recours à des bactéries lactiques a été rapporté dans la littérature afin d'éliminer la TMA présente dans des échantillons de poisson dont l'état de fraîcheur était altéré. Après contact direct avec les cultures bactériennes, la teneur en TMA a été mesurée dans les différents échantillons. Il a alors été constaté que ce traitement permettait une réduction du contenu en TMA oscillant entre 45 et 62% [179]. Toutefois, dans ce cas, cette étude ne s'est intéressée qu'au contenu en TMA. Or, tel qu'il l'a déjà été mentionné dans cette revue de littérature, le contenu odorant des matrices d'origine marine ne peut être résumé qu'à la présence de TMA. De ce fait, le manque de connaissances quant à l'impact d'un tel traitement sur d'autres représentants volatils odorants apparaît ici comme un biais important et ce, en plus du manque de connaissances relatif au mécanisme d'action des bactéries ici ciblées.

Ainsi, le recours à des méthodes basées sur l'emploi de microorganismes à des fins de désodorisation semble aujourd'hui limité. En outre, en plus de ces inconvénients, le fait que les microorganismes soient des espèces vivantes rend leur mise en œuvre beaucoup plus complexe comparativement à de simples procédés physico-chimiques ce qui, représente un frein majeur quant

à leur expansion à plus grande échelle. En effet, les procédés de désodorisation basés sur le recours aux microorganismes semblent être principalement employés à l'échelle laboratoire.

1.4.2. Méthodes chimiques

1.4.2.1. Ozonation

L'ozonation est un procédé d'oxydation puissant basé sur le recours à l'ozone. Dans le secteur de l'industrie des produits marins, l'ozone est employé notamment afin de traiter les eaux des systèmes d'aquaculture. En effet, ceci permet de réduire de manière considérable la charge bactérienne pathogène pouvant se développer dans ces eaux. Également, l'ozone peut être utilisé afin d'accroître la durée de conservation des matrices d'origine marine [180]. À cet effet, la performance de l'ozone à augmenter la durée de conservation de ce type de matrices a directement été associée à son pouvoir bactéricide. Plus précisément, les bactéries peuvent être responsables de la formation de composés volatils malodorants et, en exerçant un tel pouvoir, l'ozone permet avant toute chose de prévenir la formation de tels composés [181]. Par exemple, Aponte *et al.* (2018) ont associé l'accroissement de la durée de conservation basée notamment sur la conservation d'attributs sensoriels appréciables de 4 matrices d'origine marine différentes, à savoir, le cabillaud, la crevette, la limande et la pieuvre, à l'élimination de bactéries capables de transformer le TMAO en TMA ou de produire des composés volatils soufrés à l'origine d'odeurs déplaisantes [182]. Néanmoins, il existe un réel manque de connaissances quant à la performance de l'ozone à détruire les composés volatils odorants une fois qu'ils sont formés dans les matrices d'origine marine puisque la capacité du procédé d'ozonation à étendre la durée de conservation des produits d'origine marine a principalement été étudiée par le recours à des analyses sensorielles. En outre, seules les études s'intéressant aux eaux des systèmes d'aquaculture ont témoigné de l'efficacité du procédé d'ozonation à détruire les composés volatils, principalement les composés de géosmine et de 2-méthylisobornéol [183]. Or, ce genre de matrices étant beaucoup moins complexe, il se pourrait que l'ozone soit moins efficace à détruire les composés volatils lorsque ces derniers sont présents dans des matrices présentant un contenu plus varié. De plus, l'ozone étant un procédé d'oxydation puissant, celui-ci est connu pour sa capacité à engendrer des réactions secondaires non désirées. Ainsi, sa compatibilité avec les matrices d'origine marine contenant pour certaines une teneur importante en acides gras polyinsaturés hautement sensibles aux réactions d'oxydation apparaît limitée. Finalement, l'ozone ne peut être utilisé qu'à des valeurs de l'ordre du milligramme par kilogramme de matrice traitée puisqu'à des concentrations supérieures, celui-ci présente une certaine toxicité [183]. Ainsi, tous ces éléments semblent indiquer que l'ozonation ne serait pas un procédé à favoriser dans un

contexte de désodorisation d'une matrice d'origine marine complexe renfermant notamment dans sa composition des acides gras polyinsaturés.

1.4.2.2. Antioxydants

L'évaluation de la performance des antioxydants à être employés en tant que stratégie de désodorisation a déjà été rapportée pour différentes matrices d'origine marine : hydrolysats de crustacés, poisson, huile de poisson. Systématiquement, ces études ont eu recours à des polyphénols de thé [12,87,184,185]. Lorsqu'une telle stratégie a été appliquée à un hydrolysats de palourde, il a été constaté que le recours aux polyphénols de thé permettait de prévenir la formation d'aldéhydes à partir des hydrocarbures présents dans l'hydrolysats sans pour autant impacter la perception olfactive de ce dernier. De plus, lorsque la performance des polyphénols de thé a été comparée à celle de deux autres stratégies de désodorisation à savoir, l'adsorption sur charbon actif et l'usage d'un extrait de levure, les auteurs de l'étude ont remarqué que la stratégie basée sur l'emploi d'antioxydants présentait une performance largement inférieure [12]. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Song *et al.* (2018). En effet, ces auteurs ont également eu recours aux polyphénols de thé afin de procéder à la désodorisation d'une matrice d'origine marine, en l'occurrence l'huile de poisson. À cet effet, ils ont constaté que ce traitement n'avait que très peu d'effet sur les aldéhydes, cétones et alcools. De plus, les autres méthodes de désodorisation évaluées dans cette étude telles que la LLE ou l'adsorption sur zéolithes ont quant à elles démontré une performance supérieure [87]. En revanche, des résultats plus prometteurs ont été obtenus dans l'étude de Fan *et al.* (2008) lorsqu'ils ont étudié l'intérêt d'immerger la carpe dans une solution de polyphénols de thé avant son stockage à des températures de congélation afin de préserver ses qualités organoleptiques. Ils ont alors démontré qu'un tel traitement permettait de maintenir les attributs sensoriels de la carpe au cours de son stockage pendant une période d'au moins 35 jours. Toutefois, de tels résultats n'ont été démontrés que par des analyses sensorielles et non pas par méthodes analytiques ce qui, constitue la limite principale de cette étude [185]. Finalement, dans leur étude traitant de la désodorisation de filets de poisson-chat, Liu *et al.* (2017) ont eu recours à des polyphénols de thé afin d'éliminer spécifiquement la géosmine et le 2-méthylisobornéol, composés considérés comme ayant une contribution majeure dans l'appréciation sensorielle négative de ce genre de matrices. Dans ce cas, la performance de ce traitement a été évaluée tant au niveau sensoriel qu'au niveau analytique. Il a alors été constaté que le traitement des filets de poisson-chat par des polyphénols de thé permettait d'en améliorer le profil odorant d'un point de vue sensoriel. Néanmoins, parmi les deux composés ciblés, seule la concentration en 2-méthylisobornéol a diminué lors du traitement impliquant l'usage de polyphénols de thé tandis qu'aucun effet n'a été constaté quant à la géosmine [184].

Ainsi, de manière générale, il semblerait que le recours à des antioxydants ne soit pas une avenue d'intérêt afin de procéder à la désodorisation des matrices d'origine marine. En revanche, ces derniers semblent plutôt adaptés à des fins de prévention de la formation de composés volatils. Ceci s'explique par le fait que ces produits renferment généralement des acides gras polyinsaturés qui, sont relativement sensibles à l'oxydation. Et, lorsque ces acides gras subissent des réactions d'oxydation, il en résulte la formation de composés volatils pouvant être plus ou moins odorants [186]. Ainsi, traiter les produits de la mer avec des antioxydants permet de protéger les chaînes d'acides gras de l'oxydation et, de limiter la formation d'odeurs désagréables. Ceci ne permet en revanche pas d'éliminer les odeurs lorsqu'elles sont déjà présentes.

1.4.3. Méthodes physiques

1.4.3.1. Méthodes d'extraction

Le recours aux méthodes d'extraction à des fins de désodorisation a principalement été envisagé afin de trouver des alternatives à la méthode traditionnelle de désodorisation de l'huile de poisson. Plus précisément, la méthode de désodorisation traditionnelle des huiles telles que l'huile de poisson consiste en une distillation à la vapeur. Or, un tel procédé implique de hautes températures (entre 180 et 270°C) et de faibles pressions (entre 0.1 et 1 kPa). Les hautes températures peuvent être responsables d'une baisse considérable de la qualité nutritionnelle des huiles en raison de l'occurrence de réactions indésirables telles que les réactions d'oxydation, de polymérisation, de cyclisation et d'isomérisation cis/trans. Par conséquent, de nombreux efforts ont été apportés afin de trouver des alternatives impliquant des conditions opératoires plus douces [87]. À cet effet, les méthodes d'extraction LLE ou encore la SFE ont récemment gagné un intérêt croissant.

1.4.3.1.1. Extraction liquide-liquide

La LLE repose sur le recours à un solvant afin d'éliminer les composés volatils de faibles poids moléculaires et de maximiser la préservation des composés thermolabiles. Comme il l'a été mentionné au début de cette revue de littérature, la LLE est également employée en tant que méthode d'extraction des composés volatils. Lorsqu'un tel procédé a été employé afin de désodoriser de l'huile provenant de co-produits de thon et d'anchois, celui-ci a permis d'en réduire considérablement le contenu en composés odorants. Plus précisément, après traitement, les contenus totaux en aldéhydes, cétones et alcools de l'huile désodorisée ont diminué respectivement de 30, 96 et 94% comparativement à l'huile non traitée [87]. Toutefois, ce procédé peut impliquer le recours à des températures proches de 100°C ce qui, suscite interrogation quant à la préservation des composés

thermolabiles. Qui plus est, son applicabilité n'a été démontrée que pour l'huile de poisson dont le contenu est beaucoup moins complexe que celui d'un hydrolysat puisqu'il se résume principalement à la présence de lipides.

1.4.3.1.2. Extraction au fluide supercritique

Tel que mentionné précédemment dans cette revue de littérature, la SFE peut être employée à des fins d'extraction des composés volatils. Toutefois, le recours à une telle stratégie et, plus précisément, au dioxyde de carbone supercritique a aussi été envisagé en tant qu'alternative à la méthode traditionnelle de désodorisation des huiles de poisson ainsi que pour la désodorisation d'autres matrices d'origine marine. Celui-ci présente de nombreux avantages tels que son caractère non-toxique, sa haute sélectivité ainsi qu'un faible temps d'extraction [187]. Plus précisément, le dioxyde de carbone supercritique a déjà été utilisé à des fins d'élimination des composés responsables d'odeurs déplaisantes dans diverses matrices d'origine marine telles que l'huile de poisson, la sauce de poisson ou directement le poisson [96,97,188]. Lorsque ce procédé a été appliqué à l'huile de poisson, plus précisément, l'huile de thon, sous des conditions de température de 40°C et de pression de 20 MPa, ceci a permis une élimination totale des composés odorants tels que le butanal, le pentanal, le disulfure de diméthyle ou encore l'éthylbenzène [96]. Concernant la sauce de poisson, son traitement par dioxyde de carbone supercritique sous des conditions de température de 35°C et de pression de 10 MPa, a permis de réduire le contenu de la TMA, du 3-méthylbutanal et du disulfure de diméthyle de respectivement 95, 45 et 70% [97]. Finalement, lorsqu'un tel procédé a été appliqué à la désodorisation de l'anchois sous des conditions de température de 50°C et de pression de 35MPa, les composés de TMA et de disulfure de diméthyle, considérés comme étant les sources majeures d'odeurs déplaisantes dans ce poisson, ont été complètement éliminés. Ce fut le cas aussi d'autres composés odorants tels que le 3-méthylbutanal, de l'heptanal ou de l'octanal [188]. Ainsi, l'utilisation du dioxyde de carbone à des fins de désodorisation apparaît ici comme une avenue d'intérêt de par son efficacité. De plus, ce procédé semblerait être compatible à tout type de matrice dans la mesure où, comme il l'a été mentionné, son efficacité a été rapportée pour des matrices d'origine marine de diverses natures. Toutefois, le coût conséquent des équipements, directement associé aux hautes pressions que ce procédé requiert, représente à l'heure actuelle un frein majeur à l'expansion industrielle de l'extraction au dioxyde de carbone supercritique. Également, il semblerait que le taux d'élimination des composés odorants soit positivement corrélée à la température. Toutefois, afin de préserver les composés thermolabiles présents dans les matrices d'origine marine, en l'occurrence les acides gras polyinsaturés, il n'est pas possible de travailler sous des conditions de température trop élevées ce qui, peut limiter la performance de ce procédé [187].

1.4.3.2. Méthodes d'adsorption

Les méthodes d'adsorption sont des méthodes de séparation qui impliquent l'attraction sélective à la surface d'un matériau poreux de certains composés provenant d'un liquide ou d'un gaz [189]. Concernant la désodorisation des produits d'origine marine, deux matériaux semblent particulièrement employés : le charbon actif et la zéolithe. Ces derniers ont été employés afin d'éliminer les composés odorants de diverses matrices telles que l'huile de poisson, l'hydrolysate de poisson et de crustacés ou encore de la gélatine de poisson [12,87,116,178,190,191].

1.4.3.2.1. Adsorption sur charbon actif

En ce qui concerne le charbon actif, ce dernier est un matériau carboné de structure poreuse dont la taille des pores peut varier de 1,0 à 4,0 nm. Celui-ci a notamment été employé afin de désodoriser un hydrolysate de palourde. À cet effet, il a été constaté que des conditions optimales de traitement correspondant à une concentration de 35 mg/mL de charbon actif, une température de 80°C et une durée de traitement de 40 min conduisaient à une diminution conséquente de la teneur en aldéhydes et en cétones de l'hydrolysate de palourde. En effet, la proportion d'aldéhydes à chaîne carbonée saturée a diminué de manière significative : le contenu en pentanal, hexanal et heptanal a connu une diminution de 50% tandis que le contenu en octanal a connu une diminution de presque 74%. A contrario, le contenu en 2,4-décadiène a augmenté de presque 15%. Tout comme ce représentant aldéhydique, le contenu en représentants de la classe des alcools a augmenté au cours de ce traitement d'environ 20%. Les composés de 3-hydroxy-2-butanone et d'heptanol ont même été identifiés dans l'hydrolysate traité alors qu'ils n'étaient même pas présents dans l'hydrolysate initial. De plus, un tel traitement n'a eu aucun impact sur le contenu en TMA de l'hydrolysate [12]. Or, dans un contexte de désodorisation, l'élimination d'un tel composé revêt un caractère crucial puisque la TMA participe grandement à l'odeur déplaisante des matrices d'origine marine. Ainsi, le recours à l'adsorption sur charbon actif semble avoir une performance limitée à des fins de désodorisation d'un hydrolysate de palourde. De plus, la température de traitement, ici de 80°C, est relativement conséquente. De ce fait, un tel traitement ne semblerait pas compatible avec les matrices d'origine marine renfermant une teneur importante en acides gras polyinsaturés puisqu'il risquerait de conduire à leur dégradation. Lorsque l'adsorption sur charbon actif a été appliquée à un hydrolysate de poisson *Tilapia*, des conditions de traitement correspondant à une concentration en charbon actif égale à 1.5 g/L, une température de traitement de 40°C et une durée de traitement de 40 min ont conduit à l'élimination totale du 1-octène-3-ol, du nonanal, du (Z)-2-décène et du 2-undécène. En revanche, pour d'autres composés tels que l'octénol, le linalool et le (E)-2-octène, leur concentration s'est vue augmenter au cours du procédé [178]. Ces résultats semblent de nouveau indiquer que le procédé de

désodorisation basé sur le recours au charbon actif aurait une performance limitée. Néanmoins, lorsque le charbon actif (0,5% (*m/v*), 35°C, 1h) a été employé afin d'éliminer les composés odorants présents dans la gélatine provenant de la peau du poisson *Takifugu rubripes*, ce traitement s'est accompagné d'une diminution de 21 et 22,5% de l'hexanal et du (E)-2-dodécenal respectivement ou encore de l'élimination totale du décanal et du tétradécanal [116]. Dans ce cas, les résultats obtenus apparaissent davantage prometteurs que ceux obtenus dans le cadre de la désodorisation des hydrolysats de palourde et de Tilapia. Ainsi, la performance de ce procédé doit certainement dépendre de la composition initiale de la matrice à traiter.

1.4.3.2.2. Adsorption sur zéolithes

En ce qui a trait à la zéolithe, il s'agit ici d'un matériau poreux généralement composé d'aluminium, de silice, d'oxygène ainsi que de cations dont la taille des pores varie de 0,3 à 0,8 nm. Il existe différents types de zéolithes parmi lesquels figurent la faujasite et la mordenite et, pour un même type de zéolithes, il est encore possible de différencier les matériaux selon leur rapport silice/aluminium [189]. La littérature rapporte le recours à la zéolithe à des fins de désodorisation de l'huile de poisson principalement. À cet effet, Güner *et al.* (2019) ont, dans des conditions de traitement correspondant à une concentration en zéolithes de 0,5% (*m/v*), une température de traitement égale à 25°C et une durée de traitement de 1h30, observé une diminution du contenu en (E,E)-2,4-heptadiénal, 3,5-octadiène-2-one et 3-éthyl-1,4-hexadiène de 60, 18 et 100% respectivement. A contrario, dans de telles conditions une augmentation de la teneur en 1-pentèn-3-ol, D-limonène ou encore en 1,4-cyclooctadiène a été observée [191]. Aussi, Song *et al.* (2018) ont procédé à la désodorisation d'huile produite à partir de co-produits issus de la transformation du thon et d'anchois par un traitement basé sur le recours à la zéolithe (10% (*m/v*)), à 70°C pendant 15 min. Un tel traitement a permis notamment de réduire le contenu du 1-pentèn-3-ol, du butanal et de l'hexanal de respectivement 44, 100 et 35%. En revanche, tel qu'il l'a été constaté dans l'étude de Güner *et al.* (2019), l'adsorption sur zéolithe s'est aussi accompagnée d'une augmentation de la concentration de certains composés. Dans le cas de l'étude de Song *et al.* (2018), ce fût le cas pour le nonanal, le benzaldéhyde et la 2-nonanone [87]. À l'heure actuelle, la compréhension relative à l'augmentation du contenu de certains composés volatils au cours des procédés d'adsorption est vraiment limitée et, aucun mécanisme n'a encore réellement été proposé afin d'expliquer de tels résultats. Ainsi, de la même manière que pour le procédé d'adsorption sur charbon actif discuté précédemment, la performance d'un tel procédé à des fins de désodorisation apparaît comme peu optimale. Mentionnons tout de même que des résultats plus prometteurs ont été obtenus par Chung et Lee (2009) lorsque ces derniers ont évalué la pertinence de l'adsorption sur zéolithes (20 mg/mL,

50°C) à être employée en tant qu'alternative à la méthode traditionnelle de désodorisation de l'huile de poisson. Il a été constaté qu'après 10h de traitement, un taux d'élimination d'environ 80% de TMA pouvait être atteint. Toutefois, dans ce cas, un tel taux d'élimination de la TMA n'a été constaté que sur une solution modèle ne renfermant que ce composé malodorant. En effet, lorsque ce traitement a été appliqué à de l'huile de poisson, la performance du procédé de désodorisation n'a été évaluée qu'à l'aide d'un instrument de mesure d'odeurs sans aucune considération de la concentration en TMA [190]. Également, qu'il s'agisse du recours au charbon actif ou à la zéolithe, en plus des inconvénients déjà mis en avant précédemment, la limitation principale de ces procédés repose sur le colmatage des pores du matériau d'adsorption impactant alors de manière significative la performance des traitements mis en jeu. De ce fait, les méthodes d'adsorption n'apparaissent pas comme une avenue optimale de désodorisation.

1.5. Méthodes présentant un potentiel à des fins de désodorisation

Comme il l'a été souligné précédemment, bien que les stratégies de désodorisation actuellement disponibles se soient avérées pertinentes à différents niveaux, toutes semblent être associées à des inconvénients. Ceci a donc conduit à prêter attention à d'autres méthodes qui n'ont encore jamais été employées à des fins de désodorisation mais qui, pourtant, présenteraient un certain potentiel. Parmi ces méthodes figurent les procédés membranaires incluant les procédés baromembranaires et électromembranaires ainsi que le procédé de désaération. Les paragraphes qui suivent se proposent de s'intéresser plus en détails à ces procédés.

1.5.1. Procédés membranaires

1.5.1.1. Procédés baromembranaires

1.5.1.1.1. Principe général

Les procédés baromembranaires utilisent la pression en tant que force motrice afin de séparer des composés selon leur taille au travers d'une membrane de filtration. Plus précisément, le liquide traité traverse la membrane de filtration sous l'effet d'une différence de pression occasionnée de part et d'autre de cette membrane. La fraction du liquide ayant traversé cette membrane est appelée perméat tandis que la fraction ayant été retenue par la membrane est appelée rétentat. D'une manière générale, ces procédés sont particulièrement appréciés pour leur faible coût lié notamment à une

consommation énergétique modérée, mais aussi pour leur capacité à réduire et à revaloriser les sous-produits générés. Ces procédés trouvent de nos jours de nombreuses applications dans les secteurs alimentaire et nutraceutique principalement : pasteurisation/clarification/concentration des jus, pasteurisation du lait, épuration des laits de fromagerie, épuration du lactosérum, déminéralisation de l'eau [192].

1.5.1.1.2. Membranes de filtration

Selon la pression utilisée ainsi que la taille des pores présents au niveau des membranes de filtration et, par conséquent, la nature des espèces qu'elles peuvent séparer, 4 technologies peuvent être distinguées : la microfiltration, l'ultrafiltration, la nanofiltration et l'osmose inverse (Figure 1-14). Plus précisément, la taille des pores associés à la membrane de filtration est négativement corrélée aux valeurs de pression requises. En effet, des pressions de l'ordre de 1 bar sont requises lors du procédé de microfiltration qui, repose sur le recours à des membranes dont la taille des pores est de l'ordre du micromètre. A contrario, le procédé d'osmose inverse qui, permet d'obtenir un perméat exclusivement constitué d'eau en théorie, nécessite des pressions variant entre 30 et 60 bar. Dans ce cas, la taille des pores des membranes d'osmose inverse varie entre 10^{-4} et 10^{-3} μm [192].

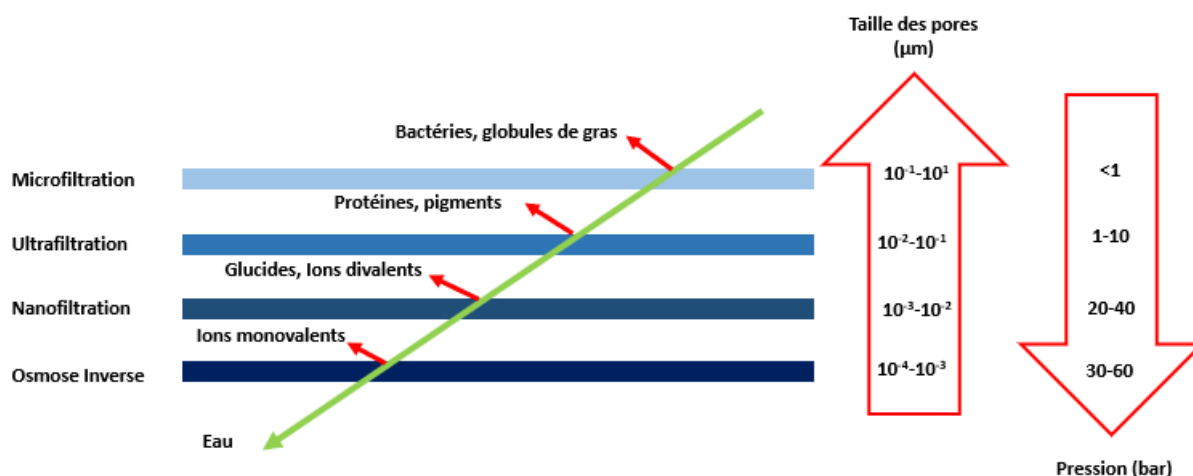


Figure 1-14. Procédés baromembranaires différenciés selon la taille des pores et les pressions appliquées (adapté de Bazinet et al. (2019) [192])

1.5.1.1.3. Procédés baromembranaires et composés volatils

La littérature rapporte de nombreux recours aux procédés baromembranaires afin de concentrer les composés volatils odorants retrouvés dans les eaux de cuisson de divers produits d'origine marine tels que les moules, les crevettes, le thon, le crabe des neiges, le homard américain ou encore les bigorneaux [113,114,193–196]. À cet effet, les procédés baromembranaires ont été

utilisés soit de manière individuelle soit en combinaison. Indépendamment de la stratégie employée, il a alors pu être constaté que les concentrés obtenus avec de tels procédés présentaient des caractéristiques sensorielles globalement similaires aux eaux de cuisson initiales. Ceci semble donc indiquer qu'il est possible d'avoir recours aux procédés baromembranaires afin de récupérer les composés volatils odorants. Or, s'il est possible d'obtenir une fraction enrichie en ces composés lors de l'application des procédés baromembranaires, ceci signifie qu'il semblerait également possible d'obtenir simultanément une autre fraction qui quant à elle, est supposée ne plus en contenir ou tout du moins en contenir une plus faible concentration comparativement aux matrices initiales et qui serait, par voie de conséquence, moins odorante. En ce sens, bien que les procédés baromembranaires n'ont encore jamais été employés à des fins de désodorisation, ces derniers sembleraient présenter un certain potentiel. Parmi les procédés baromembranaires utilisés afin de concentrer les composés volatils sont retrouvés principalement la nanofiltration et l'osmose inverse. Dans le cas de l'osmose inverse plus spécifiquement, ce procédé permet, comme il l'a été souligné précédemment, d'obtenir en théorie une fraction contenant de l'eau pure et, une autre fraction renfermant les autres constituants de la matrice traitée. En ce qui a trait aux eaux de cuisson des produits d'origine marine, leur composition ne se résume pas qu'à la présence de composés volatils. En effet, ces eaux de cuisson peuvent également renfermer des protéines, des peptides, des acides aminés, des lipides, des carbohydrates, des nucléotides ainsi que des minéraux [113,194]. Par conséquent, le recours à l'osmose inverse ne semble pas totalement adapté à des fins de désodorisation puisque bien que ce procédé permette de concentrer les composés volatils, celui-ci permet également de concentrer dans la même fraction les autres constituants présents dans la matrice traitée. Et, dans un contexte de désodorisation, seuls les composés volatils doivent être isolés. Dans le cas de la nanofiltration, les études ayant eu recours à ce procédé ont essentiellement évalué sa performance à concentrer les composés volatils en menant des analyses sensorielles. Bien que le nez humain puisse être considéré comme un bon indicateur, celui-ci se doit d'être couplé à des outils analytiques afin d'obtenir une information complète. De plus, dans leur étude, lorsque Walha *et al.* (2011) ont utilisé la nanofiltration afin de concentrer les composés volatils présents dans les eaux de cuisson du thon, ils ont constaté que les rétentats obtenus possédaient une intensité odorante plus faible que les eaux de cuisson initiales [195]. Ceci semblerait indiquer que même en se basant seulement sur des analyses sensorielles, la nanofiltration ne serait pas totalement performante pour retenir l'ensemble des composés volatils. Un constat similaire avait aussi été fait par Vandanjon *et al.* (2002) lorsqu'ils ont eu recours à la combinaison de traitements par ultrafiltration et nanofiltration afin de récupérer les composés volatils des eaux de cuisson de bigorneau, de crevette et de thon [193]. En outre, même si le seuil de coupure des membranes de nanofiltration est plus conséquent que celui des membranes

d'osmose inverse, il semblerait également que les concentrats produits par nanofiltration contiennent non seulement des composés volatils, mais aussi les autres constituants non-volatils présents dans la matrice traitée. Ainsi, les données rapportées dans la littérature semblent indiquer que bien que les procédés baromembranaires apparaissent a priori comme pertinents à considérer dans une problématique de désodorisation, en réalité, ces derniers ne satisfont pas pleinement aux exigences qu'implique ce genre de problématique. À ce stade, il convient également de souligner que les procédés baromembranaires sont connus pour être assujettis à des phénomènes de colmatage en raison de la pression appliquée au niveau des membranes forçant le passage des composés au travers de ces dernières. La formation de colmatage impacte alors fortement la sélectivité et, par voie de conséquence, la performance de ces procédés. Cet aspect constitue donc une autre limite des procédés baromembranaires [192].

1.5.1.2. Procédés électromembranaires

1.5.1.2.1. Principe général

L'électrodialyse (ED) est un procédé électrochimique de séparation dont le principe repose sur la migration d'espèces ioniques au travers de membranes sélectives sous l'effet d'un champ électrique. Le module d'ED traditionnel consiste en un empilement de membranes cationiques (MEC) et anioniques (MEA) disposées en alternance. Lorsqu'une solution ionique est disposée entre ces deux types de membranes, par exemple une solution de sels (NaCl), les ions chargés positivement comme les ions sodium (Na^+) migrent vers la cathode sous l'effet du champ électrique. Ces derniers peuvent transiter via les MEC mais sont en revanche retenus par les MEA. À l'inverse, les ions chargés négativement comme les ions chlorure (Cl^-) migrent vers l'anode sous l'effet du champ électrique. Ceux-ci peuvent transiter via les MEA, mais sont retenus par les MEC (Figure 1-15). D'une manière générale, les procédés électromembranaires sont particulièrement appréciés en raison de leur facilité d'utilisation, de leur efficacité, de leur faible consommation énergétique ainsi que de leur design modulaire. Ces derniers trouvent aujourd'hui de nombreuses applications notamment dans les secteurs alimentaire et pharmaceutique : retrait des acides organiques des jus de fruits et du vin, retrait des minéraux du lactosérum, inhibition du brunissement enzymatique du jus de pommes, purification de molécules [197].

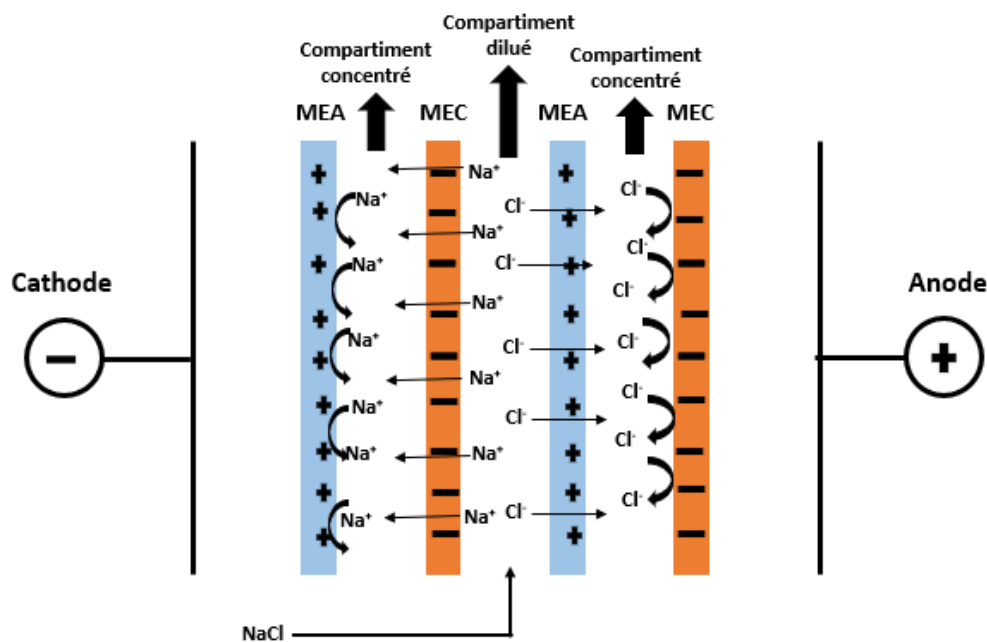


Figure 1-15. Principe de l'ED conventionnelle appliqué à une solution de NaCl (adapté de Bazinet (2019) [197])

1.5.1.2.2. Membranes d'électrodialyse

Différents types de membranes peuvent être utilisés dans les modules d'ED : les membranes monopolaires, les membranes bipolaires et, les membranes de filtration [197].

1.5.1.2.2.1. Membranes monopolaires

Les MEC et les MEA sont des membranes monopolaires dans la mesure où celles-ci ne sont perméables qu'à un seul type d'ions : les MEC ne sont perméables qu'aux cations tandis que les MEA ne le sont qu'aux anions. Ceci est permis grâce au fait qu'elles sont composées d'un matériau macromoléculaire portant des ions fixes. Les principaux groupements ioniques retrouvés dans les MEC sont des groupements sulfoniques (SO^{3-}) et carboxyliques (COO^-) tandis que les MEA ont pour principales charges fixes des groupements alkyl ammonium (NR^{3+} , NHR^{2+} , NH_2R^+). En solution aqueuse, les charges des MEA et MEC seront neutralisées par des ions de charge opposée, appelés contre-ions. En revanche, les composés de même charge ionique que celle portée par les membranes seront rejetés : on parle alors de co-ions [197]. Le principe de fonctionnement de ces membranes monopolaires est visible dans la Figure 1-15.

1.5.1.2.2. Membranes bipolaires

Les membranes bipolaires (MBP) sont composées de trois couches distinctes : une couche échangeuse d'anions, une couche échangeuse de cations et, une couche hydrophile située entre ces deux couches. Celles-ci sont capables de dissocier des molécules d'eau sous l'effet d'un champ électrique. Il en résulte une électroacidification du côté cationique provoqué par un flux de protons H^+ et à l'inverse, une électrobasification du côté anionique du fait d'un flux d'ions hydroxyles HO^- (Figure 1-16) [197].

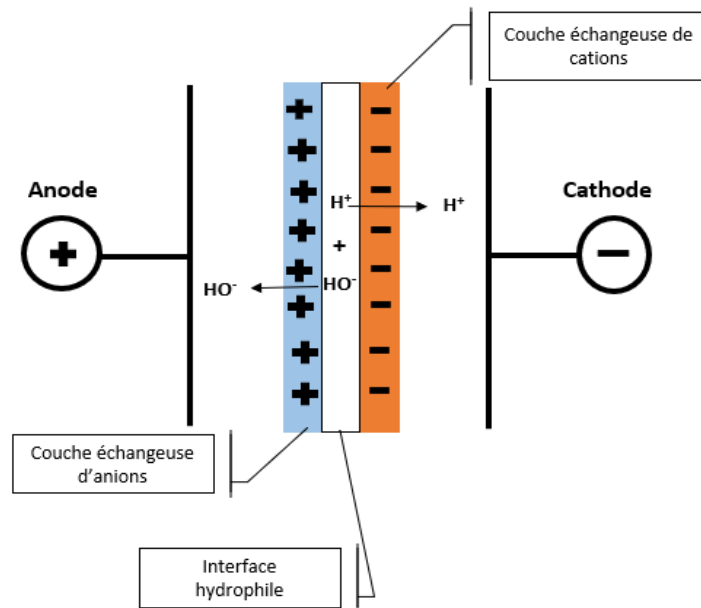


Figure 1-16. Principe de fonctionnement d'une membrane bipolaire (adapté de Bazinet (2019) [197])

1.5.1.2.2.3. Membranes d'ultrafiltration

Plus récemment a été développée l'ED avec membranes d'ultrafiltration (EDUF). Ce procédé ne diffère de l'ED conventionnelle que par le fait qu'une partie des membranes échangeuses d'ions peut être remplacée par des membranes d'ultrafiltration. Ainsi, les composés d'intérêt sont séparés non seulement selon leur charge, mais aussi selon leur taille (Figure 1-17) [197]. Le recours à l'EDUF a notamment déjà permis d'isoler des fractions ayant des activités biologiques à partir d'hydrolysats de produits d'origine marine de diverses natures : hydrolysats de saumon, hydrolysats de crabe des neiges, hydrolysats de laitance de hareng [7,8,42,198].

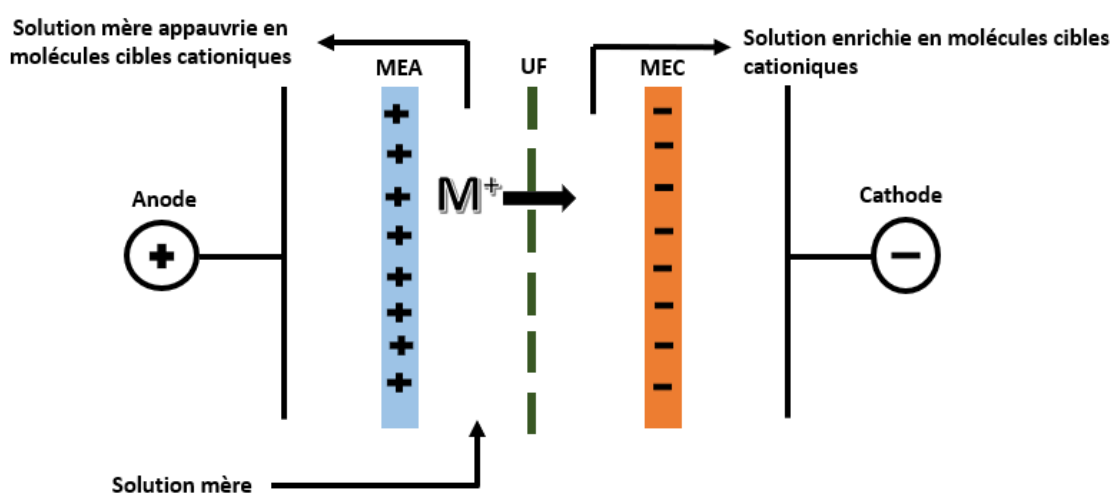


Figure 1-17. Principe de fonctionnement de l'EDUF (adapté de Bazinet (2019) [197])

1.5.1.2.3. Procédés électromembranaires et composés volatils

De la même manière que les procédés baromembranaires, les procédés électromembranaires n'ont encore jamais été employés à des fins de désodorisation. Néanmoins, des études se sont intéressées à l'impact du retrait des sels par ED sur le profil aromatique de sauces de poisson ou d'eaux de cuisson de produits marins. Ces études ont alors permis de montrer qu'il existait une corrélation positive entre le taux de déminéralisation et la diminution de la teneur en composés volatils [15,16]. Ce constat est pertinent puisque le but d'une méthode de désodorisation est précisément de réduire le contenu en composés volatils de la matrice traitée. Plus précisément, lorsque Cros *et al.* (2005) ont étudié l'impact d'un procédé de déminéralisation par ED conventionnelle sur le profil odorant d'eaux de cuisson de moules, ces derniers ont constaté que le retrait des sels à un taux de 86% conduisait à une modification significative du contenu en composés odorants ciblés. À cet effet, les composés volatils qui suivent ont vu leur concentration chuter entre 30 et 90% environ

lors du procédé d'ED : phénol, (Z)-4-heptène, 2,3-butanedione, 3-octène-2-one, pyridine, limonène et 1-propanol. De tels résultats ont été démontrés par les méthodes analytiques et sensorielles. Cros *et al.* (2005) ont attribué la baisse en composés volatils observée à l'atteinte de la densité de courant limite. En fait, sous l'effet du champ électrique, la concentration en espèces ioniques diminue petit à petit dans la matrice traitée tandis que celle dans le compartiment de récupération augmente. À une certaine valeur de densité de courant, la concentration en espèces ioniques à l'interface de la membrane avoisine la valeur nulle lorsque le contenu en sels de la matrice traitée est faible. Ceci engendre une augmentation drastique de la résistance électrique en raison du manque d'espèces capables de conduire le courant. Dans ces conditions est alors atteinte la densité de courant limite. Il y a alors dissociation des molécules d'eau en H^+ et OH^- , à l'interface de la membrane dont la concentration en ions est proche de zéro, pour compenser le manque d'espèces ioniques provenant de la matrice traitée. Différentes hypothèses ont été formulées par Cros *et al.* (2005) afin d'expliquer le lien pouvant exister entre l'atteinte de la densité de courant limite et la baisse en composés volatils observée : (i) l'altération chimique des composés volatils par les groupements H^+ et HO^- générés lors du phénomène de dissociation des molécules d'eau, (ii) l'altération thermique des composés volatils provoquée par un échauffement local au niveau des membranes en raison de l'augmentation drastique de la résistance électrique liée à l'atteinte de la densité de courant limite, (iii) l'ionisation des composés volatils en raison du manque d'espèces ioniques pour conduire le courant et finalement, (iv) l'adsorption des composés volatils au niveau des membranes échangeuses d'ions par des interactions hydrophobes ou ioniques. À l'exception du phénol, aucun des composés volatils étudiés n'a été retrouvé dans le compartiment de récupération c'est pourquoi, les auteurs de cette étude n'ont pas envisagé l'électromigration et la diffusion de ces composés au travers des membranes échangeuses d'ions afin d'expliquer la baisse de leur contenu [16]. Chindapan *et al.* (2011) ont également observé une baisse du contenu en composés volatils odorants de la sauce de poisson lors d'un traitement de déminéralisation par ED conventionnelle. Plus spécifiquement, la concentration des composés volatils qui suivent a connu une baisse entre 26 et 90% lorsque la teneur en sels de la sauce de poisson a été réduite de 24% : TMA, 2,6-diméthylpyrazine, acide acétique, acide butanoïque, acide 2-méthylbutanoïque, acide pentanoïque, acide 4-méthylpentanoïque, acide hexanoïque et phénol. Dans ce cas, la densité de courant limite n'avait pas été atteinte et, les auteurs ont formulé deux hypothèses afin d'expliquer de tels résultats : (i) l'adsorption des composés volatils à la surface des membranes échangeuses d'ions, (ii) le transport des composés volatils au travers des membranes échangeuses d'ions se produisant en même temps que l'électroosmose. Néanmoins, étant donné qu'aucune mention n'a été faite quant au contenu en composés volatils du compartiment de récupération, il n'est pas possible de savoir si effectivement ces composés volatils ont transité au

travers des membranes échangeuses d'ions. En ce qui a trait à la TMA plus spécifiquement, les auteurs ont attribué sa baisse à sa perte liée à son caractère hautement volatil. À ce stade, il est intéressant de mentionner que la TMA, de même que la DMA peuvent présenter une charge globale positive lorsque le pH est inférieur à leur valeur de pKa respectivement égale à 9,80 et 10,70 [199]. Ceci laisserait donc à penser que ces cations seraient susceptibles de migrer au cours d'un procédé d'ED. Ainsi, même si Chindapan *et al.* (2011) n'ont pas envisagé l'électromigration de la TMA lors de l'ED, il se pourrait que celle-ci ait pu participer à la baisse conséquente observée au niveau de son contenu. Finalement, de la même manière que Cros *et al.* (2005), la diminution du contenu odorant de la sauce de poisson lors du traitement par ED mis en œuvre par Chindapan *et al.* (2011) a été démontrée tant au niveau des méthodes analytiques qu'au niveau des analyses sensorielles [15]. Il convient de souligner que Lin et Chiang (1993) avaient déjà observé une baisse de 30% relative au contenu en composés aromatiques lorsqu'ils avaient eu recours à l'ED conventionnelle afin de procéder au retrait de 85% des sels présents dans les eaux usées utilisées lors du traitement des crevettes. Toutefois, dans ce cas, les auteurs ont attribué une telle baisse à la migration des composés aromatiques non volatils tels que les acides aminés et les nucléotides lors du traitement par ED sans s'intéresser à l'impact de ce traitement sur le contenu volatil [200].

Ainsi, bien que le mécanisme permettant d'expliquer la baisse de la teneur en composés volatils au cours du traitement par ED conventionnelle n'ait pas encore été élucidé à ce jour, le fait qu'il soit possible d'obtenir des fractions appauvries en ces composés et, a fortiori, moins odorantes, laisserait envisager que cette technologie électromembranaire serait une bonne candidate afin d'atteindre un objectif de désodorisation. De plus, le fait que deux des composés les plus régulièrement incriminés dans les problématiques d'odeurs déplaisantes dans les matrices d'origine marine, en l'occurrence la TMA et la DMA, peuvent être chargées sous certaines conditions de pH, laisse à penser que ces molécules seraient susceptibles de migrer au cours d'un tel procédé et, par voie de conséquence, qu'il serait possible de les éliminer de la matrice traitée œuvrant donc en faveur de sa désodorisation. En outre, la concentration de ces molécules odorantes dans le compartiment de récupération offrirait l'opportunité de procéder à leur valorisation ultérieure. En effet, ces composés pourraient alors être intégrés à la formulation d'aliments destinés tant à la consommation humaine qu'animale. Finalement, un autre point d'intérêt majeur en ce qui a trait aux procédés électromembranaires, est le fait que ces derniers et, plus précisément, l'EDUF, ont déjà été employés afin de produire des fractions bioactives à partir d'hydrolysats de laitance de hareng [7,8]. Ceci est particulièrement pertinent puisque cela démontrerait la compatibilité de ces procédés avec la composition complexe des hydrolysats de poisson.

1.5.2. Procédé de désaération

1.5.2.1. Principe général

Le procédé de désaération est un procédé bien connu de l'industrie agroalimentaire. En effet, celui-ci est traditionnellement employé afin de stabiliser les matrices alimentaires vis-à-vis du phénomène d'oxydation. Ceci permet de préserver notamment la qualité nutritionnelle et la couleur des matrices traitées tout en prévenant le développement de saveurs indésirables. Les matrices alimentaires les plus couramment stabilisées par désaérateur sont les jus de fruits. Plus précisément, un désaérateur est une technologie opérant dans des conditions de vide afin d'éliminer l'oxygène retrouvé à l'état dissous. L'élimination de l'oxygène dissous se fait en réduisant la pression au niveau de l'espace de tête de la matrice traitée. Cette réduction de la pression au niveau de l'espace de tête de la matrice promeut alors la libération de l'oxygène qui se trouvait initialement dissous au sein de cette dernière. Généralement, une température de traitement entre 0 et 5°C est appliquée afin de prévenir la dégradation des composés thermolabiles tels que les vitamines. La pression employée au cours du procédé de désaération est souvent de l'ordre de 0,1 bar (équivalent à 75 Torr). Et, les temps de traitement sont relativement courts dans la mesure où il est considéré que seules 3 à 6 min suffisent afin d'obtenir un taux d'oxygène dissous en-dessous de 3 mg/L (Figure 1-18) [201].

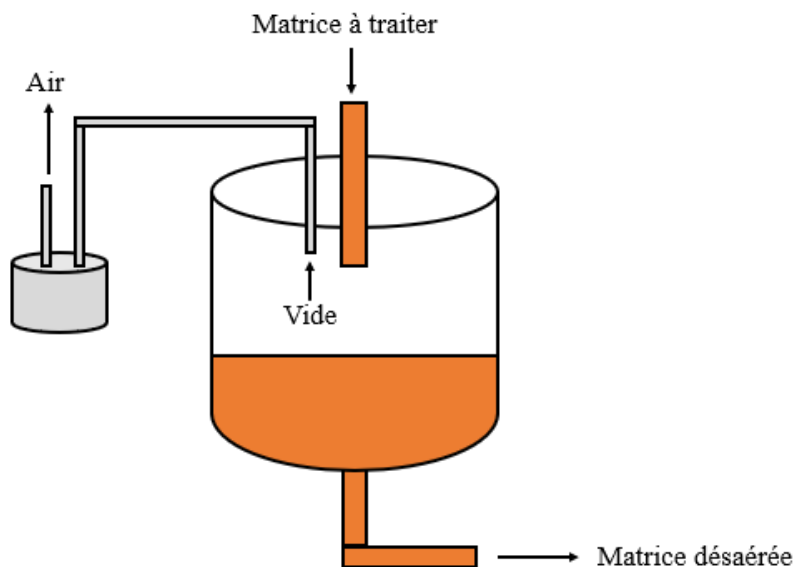


Figure 1-18. Représentation schématique d'un désaérateur sous-vide (adaptée de García-Torres et al. (2009) [201])

1.5.2.2. Procédé de désaération et composés volatils

De la même manière que les procédés membranaires, le procédé de désaération n'a encore jamais été utilisé à des fins pures et dures de désodorisation. Toutefois, certains travaux ayant étudié l'impact d'un tel procédé sur le contenu odorant de diverses matrices ont alors constaté que le procédé de désaération pouvait s'accompagner d'une baisse dans le contenu odorant [17,18]. Ceci s'explique par le fait qu'en raison de leur caractère volatil, les composés odorants sont entraînés et éliminés en même temps que les gaz dissous. Dans la mesure où l'élimination des composés volatils représente l'objectif central d'une méthode de désodorisation, ce constat est vraiment pertinent dans le cadre d'une telle problématique. Lorsque le procédé de désaération a été appliqué au jus d'orange, celui-ci a engendré une diminution variant de 60 à 90% de la concentration des composés volatils qui suivent : octanol, linanool, α -terpinéol, octanal, nonanal, decanal, α -pinène, limonène [17]. Dans leur étude sur les purées de carotte, Talcott *et al.* (2009) ont également constaté une baisse dans le contenu de divers terpènes tels que l' α -pinène, l' α -citronellol et l' α -terpinène. Dans ce cas, la baisse constatée variait entre 20 et 25% [18]. Ainsi, ces résultats semblent démontrer le potentiel du procédé de désaération à être employé à des fins de désodorisation. Outre ce constat prometteur, le procédé de désaération étant un procédé déjà couramment employé en industrie, tel que mentionné précédemment, il peut donc être aisément supposé que celui-ci n'éprouvera sans doute pas de difficultés majeures à davantage s'implanter dans le monde industriel. De plus, un tel procédé permet de traiter d'importants volumes ce qui, est compatible avec les besoins de l'industrie.

Ainsi, l'ensemble de ces éléments semblerait démontrer le potentiel de l'ED et du procédé de désaération à être utilisés en tant que nouvelles méthodes de désodorisation appliquées à un hydrolysate de laitance de hareng.

Chapitre 2 : Hypothèse et objectifs

2.1. Problématique

Afin de répondre aux défis engendrés par une population en perpétuelle croissance tout en garantissant l'utilisation éco-responsable des ressources d'origine marine, la valorisation des co-produits issus de l'industrie de transformation du poisson revêt un caractère crucial. Au cours des dernières années, la production d'hydrolysats à partir de ces co-produits a été identifiée comme étant une avenue d'intérêt afin de promouvoir l'utilisation de ces ressources. En effet, les hydrolysats qui en résultent ont démontré à ce jour une vaste gamme de bioactivités mettant alors en lumière leur potentiel à être employés dans les secteurs alimentaire, nutraceutique, pharmaceutique et cosmétique.

Néanmoins, les hydrolysats de poisson présentent l'inconvénient majeur de véhiculer des odeurs considérées comme peu plaisantes. Et, ceci limite leur utilisation. L'hydrolysate de laitance de hareng étudié dans le cadre de ce projet de doctorat est un produit commercial fourni par une entreprise québécoise spécialisée dans la valorisation de la biomasse d'origine marine et, celui-ci ne déroge pas à la tendance relative aux odeurs déplaisantes émanant de ce genre de matrices. Ainsi, la mise au point d'une méthode de désodorisation efficace représente un véritable défi afin d'assurer la valorisation de ces ressources. À cet effet, bien que les procédés d'électrodialyse et de désaération n'aient encore jamais été considérés à des fins de désodorisation, ces derniers présenteraient un certain potentiel. De ce fait, leur application à des fins de désodorisation de l'hydrolysate de laitance de hareng représente une approche innovante. Toutefois, avant de pouvoir envisager le recours à de tels procédés, il demeure tout d'abord nécessaire d'identifier les molécules odorantes contribuant à l'odeur de l'hydrolysate de laitance de hareng que ces procédés devront cibler et d'appréhender leur comportement dans cette matrice complexe puisqu'à ce jour aucune donnée n'est disponible dans la littérature scientifique au regard des propriétés olfactives de cette matrice. Également, le développement d'une méthode de désodorisation efficace ne peut se faire sans l'apport d'une meilleure compréhension relative au type de pré-traitement et aux paramètres à employer dans une telle démarche et à leurs impacts sur les molécules odorantes. D'une part, en ce qui a trait plus spécifiquement au type de pré-traitement, il convient de souligner que l'hydrolysate de laitance de hareng, à l'image de nombreuses autres ressources d'origine marine, possède un contenu important en acides gras polyinsaturés. À cet effet, sa mise en solution requiert une étape de brassage afin de s'assurer de son homogénéisation optimale avant d'opérer quelconque traitement postérieur. Cependant, afin de préserver le contenu en acides gras polyinsaturés de l'oxydation, des précautions

sont à prendre au cours d'un tel type de pré-traitement. À cet effet, le brassage peut être conduit sous inertie dans le but d'éliminer l'oxygène pouvant se retrouver à l'état dissous dans la solution d'hydrolysat. D'autre part, au regard des paramètres employés au cours de la technologie de désodorisation, tel qu'il l'a été mis en lumière dans la revue de littérature, de nombreux facteurs peuvent impacter la disponibilité des composés volatils parmi lesquels figurent le pH et la nature du sel employé afin de moduler la force ionique. De plus, en ce qui concerne le procédé d'électrodialyse plus spécifiquement, la revue de littérature a démontré que le courant appliqué semblait impacter le contenu en composés volatils. Ainsi, l'objectif de ce doctorat est de développer une méthode de désodorisation efficace et innovante appliquée à l'hydrolysat de laitance de hareng et d'apporter une meilleure compréhension relative aux mécanismes impliqués dans la libération ou, a contrario, dans la rétention des composés odorants ciblés et ce, dans le but d'œuvrer en faveur de la promotion de sa valorisation.

2.2. Hypothèse de recherche

L'ensemble des éléments exposés dans la problématique présentée précédemment ont conduit à la formulation de l'hypothèse de recherche suivante :

« Le type de pré-traitement (brassage sous inertie, pH, nature du sel), la technologie de désodorisation (électrodialyse, désaérateur) et ses paramètres (courant électrique, pH, nature du sel) influent sur les mécanismes régissant le comportement des molécules odorantes identifiées dans l'hydrolysat de laitance de hareng et sur leur niveau de retrait tout en impactant sa perception olfactive ».

2.3. Objectifs de recherche

Afin de répondre à cette hypothèse de recherche, les cinq objectifs qui suivent ont été mis en œuvre :

- **Objectif 1** : Identifier et caractériser les molécules odorantes présentes dans l'hydrolysat de laitance de hareng et dans les fractions après traitements ;
- **Objectif 2** : Etudier l'impact du type de pré-traitement (brassage sous inertie, pH, nature du sel) sur le contenu odorant de l'hydrolysat testé ;
- **Objectif 3** : Etudier l'impact de la technologie de désodorisation (électrodialyse, désaérateur) et de ses paramètres (courant électrique, pH, nature du sel) sur le contenu odorant de l'hydrolysat testé ;

- **Objectif 4** : Identifier les mécanismes régissant le comportement des molécules odorantes identifiées dans l'hydrolysat testé en fonction du type de pré-traitement, de la technologie de désodorisation et de ses paramètres ;
- **Objectif 5** : Caractériser l'impact du type de pré-traitement, de la technologie de désodorisation et de ses paramètres sur les propriétés sensorielles (odeur) de l'hydrolysat testé.

Chapitre 3 : Évaluation de la performance de l'électrodialyse à éliminer les principaux contributeurs à l'odeur d'un hydrolysate de laitance de hareng : identification des phénomènes de colmatage des membranes échangeuses d'ions et de dissociation des molécules d'eau en tant que conditions limites du procédé

L'article présenté dans ce chapitre est intitulé :

« Assessment of the Performance of Electrodialysis in the Removal of the Most Potent Odor-Active Compounds of Herring Milt Hydrolysate: Focus on Ion-Exchange Membrane Fouling and Water Dissociation as Limiting Process Conditions ». Cet article a été publié dans le journal *Membranes*, 2020, Vol. 10 (6), 127.

Les auteurs de cet article sont : Sarah Todeschini, Véronique Perreault, Charles Goulet, Mélanie Bouchard, Pascal Dubé, Yvan Boutin et Laurent Bazinet.

Transition Contextuelle

D'après la revue de littérature, l'hydrolysat de laitance de hareng, à l'image d'autres hydrolysats de poisson, présente un important potentiel bioactif. Toutefois, les odeurs peu agréables que celui-ci véhicule limitent son utilisation optimale. Tel que démontré par la littérature scientifique, les odeurs présentes dans les matrices d'origine marine sont liées à la contribution de composés volatils appartenant aux différentes classes de la chimie organique. Ainsi, avant d'être en mesure de développer une méthode de désodorisation visant à éliminer ces composés volatils, une étape préliminaire de caractérisation de l'odeur de l'hydrolysat de laitance de hareng revêt un caractère indispensable. Or, au meilleur de la connaissance des auteurs, aucune étude ne s'était auparavant intéressée à la caractérisation du contenu odorant de cette matrice. En outre, d'après la littérature scientifique, les procédés d'électrodialyse (ED) et de désaération n'ont encore jamais été employés à des fins de désodorisation. Pourtant, certaines études ont déjà rapporté que ces procédés pouvaient conduire à une baisse du contenu odorant des matrices traitées.

Ainsi, les objectifs principaux de la présente étude étaient de (1) caractériser le contenu odorant de l'hydrolysat de laitance de hareng et (2) d'évaluer la performance des procédés d'ED et de désaération à réduire ce contenu.

Résumé

Le potentiel de l'ED à éliminer les 15 composés volatils identifiés comme ayant une contribution majeure à l'odeur de HMH ainsi que la triméthylamine, la diméthylamine et l'oxyde de triméthylamine, a été évalué en testant l'impact des conditions de pH et de courant. La performance de l'ED a été comparée à celle d'un désaérateur. Le pH initial de HMH a eu un impact majeur sur les composés ciblés tandis que l'ED n'a eu aucun effet. Les phénomènes de colmatage et de dissociation des molécules d'eau ont été considérés comme les limites du procédé d'ED. Le traitement de désaération à pH 7 ainsi que la basification à pH 10 de l'hydrolysat ont conduit au meilleur taux d'élimination des composés odorants.

Abstract

Herring milt hydrolysate (HMH), like many fish products, presents the drawback to be associated with off-flavors. As odor is an important criterion, an effective deodorization method targeting the volatile compounds responsible for off-flavors needs to be developed. The potential of ED to remove the 15 volatile compounds identified, in the first part of this work, for their main contribution to the odor of HMH, as well as trimethylamine, dimethylamine and trimethylamine oxide, was assessed by testing the impact of both hydrolysate pH (4 and 7) and current conditions (no current vs. current applied). The ED performance was compared with that of a deaerator by assessing three hydrolysate pH values (4, 7 and 10). The initial pH of HMH had a huge impact on the targeted compounds, while ED had no effect. The fouling formation, resulting from electrostatic and hydrophobic interactions between HMH constituents and ion-exchange membranes (IEM); the occurrence of water dissociation on IEM interfaces, due to the reaching of the limiting current density; and the presence of water dissociation catalyzers were considered as the major limiting process conditions. The deaerator treatment on hydrolysate at pH 7 and its alkalization until pH 10 led to the best removal of odorant compounds.

Keywords: electro dialysis; deaerator; herring milt hydrolysate; deodorization; off-flavors; trimethylamine; fouling; water dissociation

3.1. Introduction

Due to the important increase in fish consumption, by-products generated by industries have known an important increase over the last twenty years [7]. One major way of valorization of these by-products is based on their hydrolysis by the use of chemicals or enzymes. The resulting hydrolysates have gained more and more attention from the food, nutraceutical and cosmetics sectors, since they could be of biological interest, having antioxidant, anticancer, antidiabetic, antihypertensive or antimicrobial activities [4,40–43,45]. Recently, the valorization of herring milt hydrolysate (HMH) has been much more considered, since it contains high value-added molecules, such as peptides, amino acids, nucleic acids and vitamins, and since it has already proven its relevance regarding metabolic syndrome illnesses [7,202]. However, in spite of these promising aspects, HMH, similarly to other fish hydrolysates, presents the substantial drawback of being associated with unpleasant smells [12]. Since odor is an important criterion for consumer acceptance of a product, there is a real need to overcome this main issue [203].

Unpleasant odors in fishery products and by-products such as hydrolysates can be, in general, ascribed to the contribution of several compounds [12,204]. Nevertheless, all these compounds present the similarities of being volatile, low-molecular-weight and hydrophobic molecules [205]. Among these compounds, trimethylamine (TMA), a tertiary amine characterized by a strong fishy odor, is the most well-known agent involved in the off-flavors of marine products [190]. With other amines like dimethylamine (DMA), TMA is considered to be a major indicator of fish spoilage [13]. TMA and DMA originate from the breakdown of trimethylamine oxide (TMAO) due to bacterial and enzymatic reactions, respectively, as well as environmental conditions [14]. In addition to nitrogen-containing compounds, other volatile compounds belonging to various chemical groups, such as aldehydes, ketones or alcohols, have already been proven to be associated with off-flavors in fishery materials [12,125,204]. These latter compounds originate from enzymatic reactions, lipid oxidation, microbial actions and environmental or thermic stresses [203]. Nonetheless, as no study has been carried out so far regarding the odor of HMH, there is no evidence concerning the contribution of these compounds in this type of matrix, and this needs to be further investigated.

Different strategies are currently available to remove off-flavors. Depending on their principles, they can be divided into three groups of deodorization methods: biological, chemical and physical methods. Firstly, biological methods are based on the use of microorganisms. However, their action spectrum is often reduced, as they target specific compounds, and their mechanisms remain inaccurate [12,94,206]. Chemical methods involve processes like ozonation or the use of antioxidants. The

ozonation process presents the main drawback of giving rise to side reactions [183], while the use of antioxidants would be more considered as a preventive measure than a curative one [12,185]. Finally, physical methods include various processes, such as extraction or adsorption on microporous materials. Extraction methods can involve high temperatures that may damage thermolabile compounds [118], while the action of adsorption methods is limited [12]. Thus, disadvantages seem to be associated with all the available methods. Surprisingly, other physical processes, based on the use of selective membranes such as pressure-driven and electromembrane processes, have never been investigated for deodorization purposes so far. Therefore, developing a new deodorization method based on the use of membranes would be an innovative and challenging idea.

It is of importance to note that pressure-driven processes have already been reported for the recovery of valuable components from cooking effluents of seafood processing industries. In that case, pressure-driven technologies allowed to obtain two distinct fractions: one rich in low-sized compounds, including volatile compounds, and another one containing purified water [193–195]. Nevertheless, in a deodorization context, the aim is only to isolate volatile compounds. Therefore, the use of pressure-driven technologies does not look appropriate for this problem. Concerning electromembrane processes, despite the fact they have never been used for deodorization purposes, the impact of a demineralization process performed by conventional electrodialysis (ED) on volatile compounds was already considered by Cros *et al.* (2005) and Chindapan *et al.* (2011). Interestingly, these studies showed that ED could lead to a decrease in the odor intensity of the treated product resulting from a decrease in the abundance of certain volatile compounds [15,16]. More specifically, Cros *et al.* (2005) observed a decrease in (Z)-4-heptenal, 2,3-butanedione, 3-octen-2-one, limonene, phenol and 1-propanol, while Chindapan *et al.* (2011) experienced a decrease in TMA, 2,6-dimethylpyrazine, various carboxylic acids and phenol, as well [15,16]. According to these results, ED would be a plausible effective process to lower the concentration of these specific molecules. To assess the feasibility of ED on HMH, it appears to be even more necessary to identify the volatile compounds contributing to its odor. Furthermore, since ED is based on the selective migration of ionic species through ion-exchange membranes (IEM) using an electric field as driving force [197], it is particularly interesting to mention that two of the major compounds associated with off-flavors in seafood products, TMA and DMA, are positively charged when the pH is lower than their pKa values, respectively equal to 9.80 and 10.70 [199], making these cations likely to migrate during an ED process.

In this context, the aim of the present study was to (1) identify the main volatile compounds of HMH contributing to its odor, (2) challenge ED as a new potential deodorization method by

comparison with a deaerator and (3) understand the potential fouling mechanisms. Even if the purpose of a deaerator is more to remove air from liquid samples, as compounds responsible for off-odors are volatile, they are removed at the same time as gases, making this device suitable as a control for this type of problem.

3.2. Materials and Methods

3.2.1. Materials

3.2.1.1. Chemicals

Sodium sulphate (Na_2SO_4), potassium chloride (KCl), sodium chloride (NaCl), methylene chloride and nonyl acetate were purchased from Fisher (Montréal, QC, Canada). Hydrochloric acid (HCl) and sodium hydroxide (NaOH) were obtained from VWR (Montréal, QC, Canada). TMAO, TMA and DMA standards came from Sigma-Aldrich (St-Louis, MO, USA). Helium and nitrogen were obtained from Praxair (Mississauga, ON, Canada). Oxygerm, Blizzard and Extrem solutions were purchased from Sani Marc (Victoriaville, QC, Canada).

3.2.1.2. HMH

HMH powder, whose composition is listed on Table 3-1, was provided by Ocean NutraSciences (Matane, QC, Canada). The hydrolysate was stored at -30°C under vacuum and protected from light before its use.

Table 3-1. Chemical composition of the herring milt hydrolysate (HMH) according to the manufacturer specifications

Compounds	Composition of dry powder (%)
Proteins	40.0 ± 5.0
Arginine	16.0 ± 2.0
Leucine	2.0 ± 0.3
Lysine	1.8 ± 0.3
Isoleucine	1.1 ± 0.2
Histidine	0.4 ± 0.2
Methionine	< 0.1
Nucleic acids	26.0 ± 5.0
Lipids	14.0 ± 4.0
Phospholipids	4.5 ± 1.5
Omega-3 (n-3) acids: Eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA)	4.0 ± 1.0
Minerals	12.5 ± 2.5
Phosphorus	3.2 ± 0.6
Sodium	1.2 ± 0.1
Potassium	0.7 ± 0.1

3.2.2. Methods

3.2.2.1. Protocols

Two protocols were specifically designed for this study. The first aimed to identify the volatile compounds of the HMH and their contribution to its odor, while the second assessed the potential of ED to remove these compounds.

3.2.2.1.1. Volatile Compound Analyses

3.2.2.1.1.1. Volatile Compound Extraction

Volatile compounds were extracted according to the procedure described by Tremblay *et al.* (2020) [113]. Briefly, 6 g of solid samples dissolved in 24 mL of deionized water were absorbed by cotton balls. The soaked cotton balls were then introduced into glass tubes in which air circulated for 1h at room temperature. Volatile compounds were collected on a divinylbenzene column (HayeSep[®] Q 80/100, Bandera, TX, USA). After that, they were eluted with 150 µL of an elution solvent. The

elution solvent consisted in dichloromethane containing nonyl acetate as an internal standard (3.71×10^{-5} M). The extracts were stored at -80 °C before undergoing further analyses.

3.2.2.1.1.2. Volatile Compound Identification

Volatile compounds were identified using a gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) system consisting of a 7890B GC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) equipped with a 5977B mass selective detector (MSD) with a high efficiency source (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). The extract (1.8 μ L) was injected in splitless mode into a capillary column (DB-5MS Ultra Inert, 30 m length x 250 μ m id, 1 μ m thickness) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). The flow rate of the carrier gas (helium) was 1.3 mL/min. The temperature of the oven was programmed according to the following steps: from 35 °C (temperature hold for 1.46 min) to 47 °C at 6 °C/min, and to 250 °C (temperature hold for 3 min) at 10 °C/min. MSD conditions were as follows: source temperature, 230 °C; quad temperature, 150 °C; ionization energy, 70 eV; mass range, 30 to 250 arbitrary unit of mass (a.m.u); scan rate, 6,1 scans/s. Data obtained were processed with MassHunter Qualitative Analysis software version B.07.00 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Volatile compounds were identified by comparing their mass spectra with those available in the NIST 17.L mass spectral database (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA), and were reported when the match degree exceeded 60%.

3.2.2.1.1.3. Most Potent Odor-Active Volatile Compound Determination

The most potent odor-active volatile compounds of the HMH were determined using gas chromatography-olfactometry (GC-O) and the frequency detection method. The GC-O system consisted of a 7890B GC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) equipped with a 5977B MSD with a high efficiency source (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) and an olfactory detection port ODP3 (Gerstel, Linthicum, MD, USA) supplied with humidified air to avoid the drying of the mucous membrane in the nasal cavity. The GC effluent was split in the ratio 1: 2 between the MSD and the olfactory detection port. The extract (1.8 μ L) was analyzed according to the same procedure as those described previously. A panel made of 13 judges (11 females and 2 males between 23 and 50 years old) took part in the olfactometric experiment. They all previously followed a training session to become familiar with the GC-O system. The sniffing of the HMH extract took place during a session of 26.76 min. The judges were asked to assess the intensity of each odorant on a scale of 1–4 (1 = very weak odor intensity; 4 = very strong odor intensity) and, at the same time, to qualify the

perceived odor as bad, good or ok (the latter being if the perceived odor was acceptable without being all that pleasant). Data obtained from GC-MS were processed with MassHunter Qualitative Analysis software version B.07.00 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), while those obtained from olfactometry were treated by Gerstel ODP dataviewer software version 1.0.2.8 (Linthicum, MD, USA). Compounds detected by at least 5 of the 13 judges were considered as the most potent odor-active volatile compounds.

3.2.2.1.1.4. Analysis of the TMAO, TMA and DMA Contents

As the GC-MS method previously described was not sensitive enough to detect TMAO, TMA and DMA, another procedure was used. Samples were prepared as follows: 2 mL standards or samples pipetted into 20-mL vials were alkalized to pH 10 using 0.01, 0.1 or 5 M NaOH. The molarity of the NaOH solution used for this purpose depended on the initial pH of the analyzed samples in order to avoid any dilution effect. TMAO, TMA and DMA contents were then determined using headspace (HS) gas chromatography equipped with a nitrogen-phosphorus detector (NPD). Briefly, samples were equilibrated for 10 min in a 7697A headspace sampler (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) at 90 °C. Then 1-mL sample was injected into a 7890B GC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) equipped with a NPD. The loop and transfer line were at 110 °C and 115 °C, respectively. Volatile amines were separated using a capillary column (CP-Volamine, 30 m length x 0.32 mm id) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). GC conditions were as follows: split injection, 1:5; injector temperature, 250 °C; helium carrier gas flow, 3 mL/min; detector temperature, 300 °C; oven programmed from 50 °C (4 min) to 200 °C at 25 °C/min. Data were processed with Open Lab CDS EZChrom software version A.03.02.023 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA).

3.2.2.1.2. Deodorization by ED

3.2.2.1.2.1. ED Cell and Configuration

The ED cell used was a MP type cell with an effective area of 100 cm², manufactured by Electrocell AB (Taby, Sweden), including 4 Neosepta AMX-FG anionic membranes (AEM, Astom Ltd., Tokyo, Japan) and 3 Neosepta CMX-FG cationic membranes (CEM, Astom Ltd., Tokyo, Japan) (Figure 3-1). This arrangement defined three closed loops containing the 20 g/L Na₂SO₄ electrolyte solution (3 L), the 2 g/L KCl solution (3 L) for the potential recovery of volatile compounds and the dry HMM dissolved to 4% of proteins in water overnight at 4 °C under nitrogen, protected from light; the initial pH of 7.3 was adjusted to the desired value (3 L). Each loop was connected to an external tank allowing a continuous recirculation of the solutions. Each tank was closed in order to avoid any

loss of volatile compounds due to their volatility. All the solutions were circulated at a flow rate of 3 L/min (1.5 psi) using three centrifugal pumps. The cathode and anode used were respectively a 316 stainless steel electrode and a dimensionally-stable electrode (DSA-O₂). A 0-100 V power supply was employed to generate the potential difference between the electrodes.

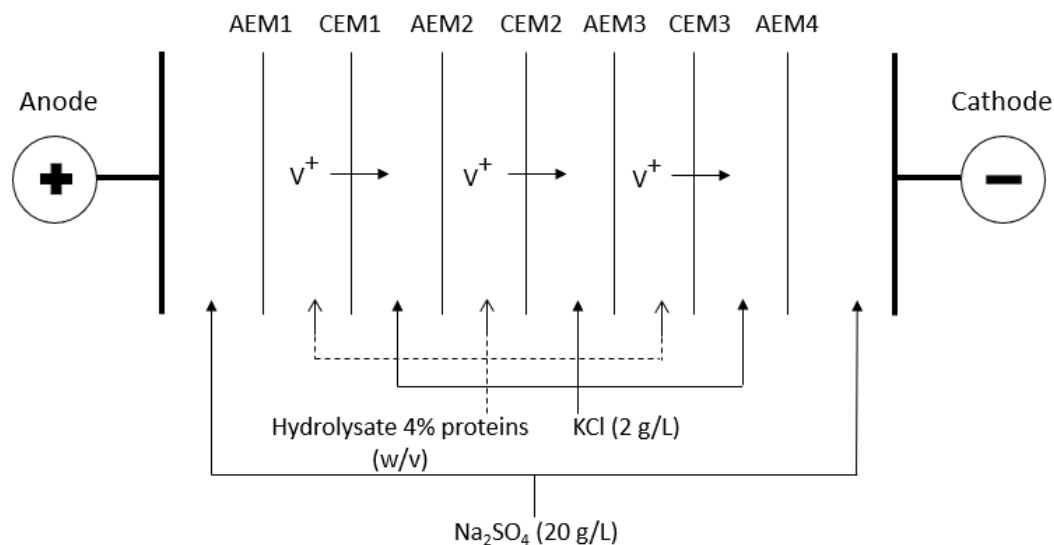


Figure 3-1. *Electrodialysis cell configuration; V⁺: cationic volatile compounds, AEM: anion-exchange membrane, CEM: cation-exchange membrane*

3.2.2.1.2.2. ED Parameters

The ED experiment was conducted for 240 min. This treatment duration was set in order to meet two main requirements: allowing the potential migration of volatile compounds without risking the degradation of polyunsaturated fatty acids present in the HMH. Also, for these reasons, in addition to microbiological concerns, temperature was controlled around 10 °C during all the ED treatments.

ED treatments were performed under different constant voltage conditions corresponding to no current application (a residual electrode potential difference of 0.7 V) and current application (voltage value of 10 V) to assess the impact of current on the volatile compound content of the HMH. Also, to assess if TMA and DMA were able to migrate in their cationic forms, the ED treatments were conducted on HMH solution preliminarily acidified at pH 4 or pH 7 with, respectively, 14 and 7 mL of 6 M HCl. Indeed, while pH is inferior to the pK_a values of these two amines, namely 9.80 for TMA and 10.70 for DMA [199], they became positively charged. The pH of hydrolysate was maintained either at 4 or at 7 with, respectively, a total addition of 25 and 10 mL of 6 M HCl during the ED run.

45-mL samples of hydrolysate and KCl recovery solutions were collected at the initial and final times. These samples were stored at -30 °C and protected from light before being further analyzed

in terms of volatile compounds and ash contents. Each condition was conducted in triplicate and in a random order. Following each run, the ED cell was rinsed with NaCl 2% (w/v) twice. The stack was cleaned with 0.1 N HCl and 0.1 N NaOH solutions every four runs. All the membranes were characterized in terms of average thickness and conductivity before any experiment and then after each run. Different membranes were used for the different conditions. However, the same membranes were used for the three replicates of the same condition.

3.2.2.1.2.3. Comparison with a Deaerator

To assess the performance of ED as a new potential deodorization method, deaerator assays were carried out. The device used was a deaerator model ERV2 (Koruma, Neuenburg, Germany). Based on preliminary tests, HMH (3L) was treated for 30 min in closed circuit under 100 Torr. In this case, treatments were performed on hydrolysate solution prepared according to the same procedure as those for ED runs. The only difference was that, in addition to pH 4 and 7, experiments on hydrolysate solution alkalized to pH 10 with 6 M NaOH were conducted as well. Indeed, in the case of deaerator, it did not matter to charge TMA and DMA molecules, as this device only uses the volatility state of compounds. Similarly to the ED experiments, 45-mL samples of hydrolysate were collected at the initial and final time. They were then stored at $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ and protected from light before being further analyzed in terms of volatile compounds. Experiments were conducted in triplicate for each studied pH value. Before use, the deaerator was decontaminated with Oxygerm solution, involving a complex blend of organic acids and powerful oxidizers. After each run, the deaerator was cleaned with Blizzard and Extrem solutions that are, respectively, a foaming chlorinated alkaline degreaser and a blend of wetting, sequestering agents and caustic soda.

3.2.2.2. Analyses

3.2.2.2.1. pH

The pH of the HMH and KCl recovery solutions was measured using a pH-meter model SP20 (Thermo Orion, West Chester, PA, USA) equipped with a VWR Symphony epoxy gel combination pH electrode (Montreal, QC, Canada). During the first hour of the ED run, pH values were recorded every 5 min and then every 15 min.

3.2.2.2.2. Conductivity

The conductivity of hydrolysate and KCl recovery solutions was measured using a YSI conductivity meter (Model 3100) equipped with a YSI immersion probe model 3252, (cell constant $K = 1\text{ cm}^{-1}$) (Yellow Springs Instrument Co., Yellow Springs, OH, United States). Similarly to the

pH measurements, the conductivity values were recorded every 5 min during the first hour of the ED run, and then every 15 min. The demineralization rate (DR, in %) of the HMH and the mineralization rate (MR, in %) of the corresponding KCl recovery solution were determined according to equations 2 and 3, respectively, where k_t refers to the solution conductivity at time t, and k_0 refers to the initial solution conductivity [207].

$$DR = \left(1 - \frac{k_t}{k_0}\right) \times 100 \quad (2)$$

$$MR = \left(1 - \frac{k_0}{k_t}\right) \times 100 \quad (3)$$

3.2.2.2.3. Ash Content

Ash content (in %) was determined using a method adapted from the Association of Official Analytical Chemists [208]. Briefly, 10-mL samples of HMH and KCl recovery solutions at initial and final times were weighted before being dried overnight at 105 °C in an oven (VWR Gravity Convection Oven, Radnor, PA, USA). Dried samples were then reduced to ashes in a furnace at 550 °C until they turned white. Samples were weighted after cooling, and the ash content was determined according to equation 4, where m refers to the measured weight.

$$Ash\ content = \left(\frac{m_{crucible+ashes} - m_{crucible}}{m_{crucible+sample} - m_{crucible}}\right) \times 100 \quad (4)$$

The DR (in %) and the MR (in %) were also determined based on the ash content values according to equations 5 and 6.

$$DR = \left(1 - \frac{ash\ content\ at\ time\ t}{ash\ content\ at\ initial\ time}\right) \times 100 \quad (5)$$

$$MR = \left(1 - \frac{ash\ content\ at\ initial\ time}{ash\ content\ at\ time\ t}\right) \times 100 \quad (6)$$

3.2.2.2.4. Global System Resistance

The global system resistance (R , in Ω) was calculated based on the Ohm's law ($R = U/I$). As voltage (U , in V) value was maintained constant during all of the ED runs, only current intensity (I , in A) values were recorded, which were directly obtained from the power supply.

3.2.2.2.5. Membrane Thickness

Membrane thickness was measured before and after each ED run in 0.5 M NaCl solution, according to the same procedure as Lemay *et al.* (2019) [209], using an electronic digital micrometer equipped with a 10-mm-diameter flat contact point from Marathon watch company LTD (Richmond Hill, ON, Canada). Six measurements, taking place at different locations on the membrane's surface, were used to obtain the average membrane thickness.

3.2.2.2.6. Membrane Electrical Conductivity

Membrane electrical conductivity was measured before and after each ED run in 0.5 M NaCl solution, according to the procedure described by Lemay *et al.* (2019) [209], using a YSI conductivity meter model 3100 (Yellow Springs Instrument Co., Yellow Springs, OH, USA) equipped with a specially designed clip from the Laboratoire des Matériaux Echangeurs d'Ions (Université Paris XII, Créteil, Val de Marne, France).

3.2.2.2.7. Volatile Compound Content

Volatile compounds determined as being the most potent odor-active compounds of the studied HMH, according to the GC-O procedure described previously, were used as deodorization indicators. Volatile compounds of HMH and KCl recovery solutions at initial and final times were obtained and analyzed according to the same extraction and GC-MS procedures described previously. The only difference was that extraction was performed on 45-mL liquid samples instead of solid samples. The area under each peak corresponding to the most potent odor-active volatile compounds was considered to assess their abundance in the different samples.

The TMAO, TMA and DMA contents of HMH and KCl recovery solutions were also determined according to the procedure described previously. The quantification was carried out with a calibration curve of known amounts of TMAO, TMA and DMA standards (from 25 ppm to 755 ppm for TMAO; from 2.5 ppm to 10 ppm for TMA and DMA).

3.2.2.2.8. Statistical Analyses

Analyses of variance (ANOVA) were performed, using SAS software version 9.4 for Windows, on data concerning ED parameters, as well as those regarding volatile compounds (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA). A Tukey test ($\alpha = 0.05$ as probability level) was used to compare the different treatments.

3.3. Results and Discussion

3.3.1. Volatile Compound Analyses

3.3.1.1. Overall Content in Volatile Compounds

The overall content of the HMH was determined using GC-MS, while HS-GC-NPD was used to verify the presence of TMAO, TMA and DMA. The GC-MS procedure led to the identification of a total of 86 compounds, as listed in Table 3-2. Although a minimal match degree of 60% was initially selected, all of the volatile compounds were identified with a score ranging from 72.29% to 98.7%. The identified volatile compounds mainly belonged to eight groups, based on their chemical structures. More specifically, volatile compounds included 27 aldehydes, 17 ketones, 12 alcohols, 8 alkenes, 8 nitrogenous compounds, 5 alkanes, 2 furans and 2 esters, while the 5 other compounds were miscellaneous representatives of other chemical groups. Aldehydes and ketones were the most abundant compounds of the hydrolysate. Aldehyde compounds included saturated and unsaturated compounds. The unsaturated aldehydes involved alkenals, alkadienals and aromatic aldehydes. Aldehyde compounds generally originate from lipid oxidation [204,210]. This would be consistent with the composition of HMH, as it results from a rich source of polyunsaturated fatty acids, as shown in Table 3-1. Aldehydes can also derive from the Strecker degradation of amino acids [62]. Strecker degradation refers to the reaction involving a dicarbonylated compound and an amino acid [60]. Concerning the ketones content, it may also be the result of lipid and/or amino acid degradation [62]. Alkanes, alkenes and alcohols, also identified in large numbers in the HMH, are mainly known to directly derive from lipid oxidation [60,121,211]. Then, among the nitrogenous compounds content, 8 compounds were identified by GC-MS, while TMAO, TMA and DMA, also listed in Table 3-2, were detected by HS-GC-NPD. On the one hand, among the nitrogenous compounds identified by GC-MS, 2 pyrazines and 2 thiazoles were detected. More precisely, concerning the pyrazine content, methylpyrazine and 2,5-dimethylpyrazine were identified. Pyrazines are generally formed during Maillard or pyrolysis reactions in heat-processed foods [67,121]. However, despite the fact that high temperatures promote pyrazine formation, mild temperatures are also sufficient to lead to the

formation of these compounds [190]. In the present study, since the HMH was obtained through enzymatic hydrolysis under minor heating, followed by a drying step by atomization involving higher temperatures, the two pyrazines identified might have been formed during one of these steps. Pyrazines can be biosynthesized by microorganisms, as well [62,121]. The thiazole content of HMH involved 2 compounds, 2-acetylthiazole and benzothiazole. Thiazole are sulfur-containing compounds that are supposed to originate from Strecker degradation [60]. Surprisingly, while Cha and Cadwaller (1995a) studied the volatile components of various fish and crustacean pastes, including herring paste and shrimp pastes, they identified 2-acetylthiazole only in shrimp paste, while benzothiazole was only identified in anchovy and hair tailed viscera pastes. Nonetheless, they were not detected in herring paste [80]. Regarding the four other nitrogenous compounds identified by GC-MS, three of them, namely 1-methyl-1H-tetrazole, 3-methyl-butanenitrile and 3-methyl oxime butanal, were not evidenced in fishery materials. These compounds may be characteristic of the volatile content of HMH. However, N-nitrosodimethylamine was already known to be generated from TMA and DMA [212]. On the other hand, the HS-GC-NPD procedure allowed the detection of TMAO, TMA and DMA (Table 3-2). In general, these compounds play a key role in the volatile content of fishery products. TMAO is a well-known osmoregulator, mainly found in marine fish, which aims to counteract protein destabilization [13]. The transformation of TMAO leads to the formation of TMA and DMA. More specifically, TMA can be formed from TMAO through bacterial degradation, while the formation of DMA is mainly attributed to the action of the endogenous TMAO aldolase enzyme [13,105]. Moreover, while TMAO is in presence of reducing agents, these molecules would be generated as well. Finally, compounds belonging to furan and ester groups were also found in HMH. More specifically, two furan compounds, 2-methylfuran and 5-isopropyl-3,3-dimethyl-2-methylene-2,3-dihydrofuran, were identified. Furans are known to originate from lipid oxidation [60]. Another mechanism of the formation of furan compounds involves Maillard and Strecker reactions [67]. Concerning the ester compounds identified, cis-cyclohexane-1,4-dimethanol diacetate and 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate, they may have originated from the esterification reaction occurring between alcohols and carboxylic acids generated through microbial or enzymatic lipid degradation [80]. It is of interest to note that Cha and Cadwallader (1995a) identified several ester compounds in herring paste, but none of them corresponded to those identified in this study. In addition, in herring paste, a high content of esters was observed. This should probably be linked to the fermentation process taking place in this type of products [80]. Also, it is interesting to note that, in this study, no carboxylic acid was identified. Whilst this was consistent with the study of Cha and Cadwaller (1995a) dealing with herring paste, this was not in line with the study of Aro *et al.* (2002), in which few carboxylic acids were identified in herring raw material [80,112]. Carboxylic acids are

known to be lipid oxidation products, or to originate from amino acid degradation [112]. The absence of carboxylic acids might be a property of the volatile content of HMH. Globally, despite the few differences noted and specified previously, most of the compounds identified in HMH have already been reported in several marine products of different origins: fishing and aquaculture products [67,76,112,121,210], fish oil [118], fish sauces and fish pastes [15,62,80,81,89,90,104], and mollusk hydrolysates [12,213].

Table 3-2. Volatile compounds identified in HMH

Classification	Compounds	Chemical Formula	Retention Time (Min)
Aldehydes	Butanal	C ₄ H ₈ O	6.050
	(E)-2-Butenal	C ₄ H ₆ O	7.086
	3-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	7.200
	2-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	7.381
	Pentanal	C ₅ H ₁₀ O	8.009
	2-Methyl-2-pentenal	C ₆ H ₁₀ O	8.777
	(E)-2-Methyl-2-butenal	C ₅ H ₈ O	8.968
	(E)-2-Pentenal	C ₅ H ₈ O	9.201
	Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	10.121
	2-Ethyl-trans-2-butenal	C ₆ H ₁₀ O	10.786
	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	10.845
	2-Hexenal	C ₆ H ₁₀ O	11.235
	2-Ethyl-2-pentenal	C ₇ H ₁₂ O	11.669
	(Z)-4-Heptenal	C ₇ H ₁₂ O	12.114
	Heptanal	C ₇ H ₁₄ O	12.156
	Methional	C ₄ H ₈ OS	12.338
	(E,E)-2,4-Hexadienal	C ₆ H ₈ O	12.391
	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	13.552
	(E,E)-2,4-Heptadienal	C ₇ H ₁₀ O	13.978
	Benzeneacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	14.984
	4-(1-methylethyl)-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde	C ₁₀ H ₁₆ O	16.025
	2-Isopropyl-5-oxohexanal	C ₉ H ₁₆ O ₂	16.200
	(E,Z)-2,6-Nonadienal	C ₉ H ₁₄ O	16.642
	2-Phenylpropenal	C ₉ H ₈ O	18.887
	4-Ethyl-benzaldehyde	C ₉ H ₁₀ O	17.027
	Decanal	C ₁₀ H ₂₀ O	17.411
	Lilac aldehyde D	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	19.394
Ketones	2,3-Pentanedione	C ₅ H ₈ O ₂	7.918
	2,3-Hexanedione	C ₆ H ₁₀ O ₂	9.751
	2-Hexanone	C ₆ H ₁₂ O	9.854
	2-Heptanone	C ₇ H ₁₄ O	11.887
	6-Methyl-2-heptanone	C ₈ H ₁₆ O	13.115
	(Z)-6-Octen-2-one	C ₈ H ₁₄ O	13.680
	2-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	13.772
	5-Methyl-3-hepten-2-one	C ₈ H ₁₄ O	13.873
	3,5-Octadien-2-one	C ₈ H ₁₂ O	15.215
	Acetophenone	C ₈ H ₈ O	15.396
	2-Nonanone	C ₉ H ₁₈ O	15.526
	(E,E)-3,5-octadien-2-one	C ₈ H ₁₂ O	15.650
	2-Decanone	C ₁₀ H ₂₀ O	17.155
	2-(2-nitro-2-propenyl)-cyclohexanone	C ₉ H ₁₃ NO ₃	17.890
	2-Undecanone	C ₁₁ H ₂₂ O	18.679
	7-Methylene-6 (or 8)-methyl-bicyclo [3.3.0]octan-2-one	C ₁₀ H ₁₄ O	18.918
	2,6-Di-tert-butyl-4-hydroxy-4-methylcyclohexa-2,5-dien-1-one	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	21.084

Alcohols	2-Methylbutan-2-ol	C ₅ H ₁₂ O	6.882
	1-Penten-3-ol	C ₅ H ₁₀ O	7.682
	1-Pentanol	C ₅ H ₁₂ O	9.358
	(Z)-2-Penten-1-ol	C ₅ H ₁₀ O	9.412
	1-Hexen-3-ol	C ₆ H ₁₂ O	9.649
	(Z)-3-Octen-2-ol	C ₈ H ₁₆ O	10.494
	2-Octyn-1-ol	C ₈ H ₁₄ O	13.361
	(E)-2-Octen-1-ol	C ₈ H ₁₆ O	14.045
	2,7-Octadien-1-ol	C ₈ H ₁₄ O	15.170
	6,6-Dimethyl-bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-methanol	C ₁₀ H ₁₆ O	17.641
	5-(methylenecyclopropyl)-1-pentanol	C ₉ H ₁₆ O	19.758
	2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-1,4-benzenediol	C ₁₄ H ₂₂ O ₂	21.317
	Alkenes	2,3-Dimethyl-2-butene	C ₆ H ₁₂
(E)-3-Methyl-2-pentene		C ₆ H ₁₂	6.471
1,4-Cyclohexadiene		C ₆ H ₈	8.307
Toluene		C ₇ H ₈	9.573
(Z,Z)-3,5-Octadiene		C ₈ H ₁₄	10.337
3,5,5-Trimethyl-2-hexene		C ₉ H ₁₈	13.502
1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-benzene		C ₁₄ H ₂₂	18.192
Butylated Hydroxytoluene		C ₁₅ H ₂₄ O	21.730
Nitrogenous compounds	Dimethylamine *	C ₂ H ₇ N	4.350
	Trimethylamine *	C ₃ H ₉ N	4.581
	Trimethylamine oxide *	C ₃ H ₉ NO	4.883
	1-Methyl-1H-tetrazole	C ₂ H ₄ N ₄	7.739
	3-Methyl-butanenitrile	C ₅ H ₉ N	8.716
	N-Nitrosodimethylamine	C ₂ H ₆ N ₂ O	8.862
	Methylpyrazine	C ₅ H ₆ N ₂	10.696
	3-Methyl oxime butanal	C ₅ H ₁₁ NO	10.992
	2,5-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	12.449
	2-Acetylthiazole	C ₅ H ₅ NOS	14.513
	Benzothiazole	C ₇ H ₅ NS	18.255
Alkanes	Cyclohexane	C ₆ H ₁₂	6.704
	Hexylidene cyclopropane	C ₉ H ₁₆	9.912
	4-Methyloctane	C ₉ H ₂₀	11.355
	Dodecane	C ₁₂ H ₂₆	14.903
	(1.alpha.,3.alpha.,5.alpha.)-1,5-diethenyl-3-methyl-2-methylene-cyclohexane	C ₁₂ H ₁₈	20.135
Furans	2-Methylfuran	C ₅ H ₆ O	9.155
	5-Isopropyl-3,3-dimethyl-2-methylene-2,3-dihydrofuran	C ₁₀ H ₁₆ O	16.740
Esters	Cis-cyclohexane-1,4-dimethanol diacetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₄	18.508

	2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	C ₁₆ H ₃₀ O ₄	22.692
Others	Trimethyloxirane	C ₅ H ₁₀ O	6.5140
	Di-t-butylacetylene	C ₁₀ H ₁₈	12.546
	(Z)-3-undecen-1-yne	C ₁₁ H ₁₈	15.796
	2-(hexyn-1-yl)-3-methoxymethylene oxirane	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	18.042
	Acetic acid, nonyl ester	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	18.820

* Compounds identified by HS-GC-NPD while all the others were identified by GC-MS.

3.3.1.2. Most Potent Odor-Active Volatile Compounds

To better understand the contribution of each compound to the overall aroma of the studied HMH, the frequency detection method was used. As shown in Table 3-3, a total of 15 compounds were perceived by at least 5 of the 13 judges, and would be considered to be the most potent odorants of the HMH. 11 of these 15 odorants were aldehyde compounds. In a general way, aldehydes impact significantly the overall aroma, due to their lower odor thresholds compared to other chemical groups. This means that only a small concentration of these compounds is necessary to make them perceptible [210]. Among the aldehyde compounds, 3-methylbutanal was perceived by all the panelists, while 2-methylbutanal was perceived by 6 of the 13 judges. 3-methylbutanal and 2-methylbutanal are generally generated from the Strecker reaction of leucine and isoleucine, respectively [81,118]. Both of these saturated aldehydes are characterized by burnt, malted, dark chocolate smells. 3-methylbutanal was identified as being the major aldehyde contributing to the odor of white herring [107]. Pentanal, hexanal, heptanal and octanal were sniffed by at least 6 of the 13 judges. These compounds are derived from lipid oxidation. On the one hand, pentanal and hexanal are respectively responsible for pungent and green smells, while green, rancid and fishy notes are ascribed to heptanal [62,67,118,121]. On the other hand, octanal is described as having citrus and orange peel smells, but also as having fatty and fishy smells [62,67,121]. The smell of octanal may probably depend on its concentration and its possible interactions with other compounds present in the matrix of interest. An interesting point was noticed by Liu *et al.* (2017) concerning hexanal. They noted that hexanal boosted the global fishy odor when it acted synergistically with other compounds, while its odor could not really be considered fishy when it stood alone [86]. Also, it is noteworthy that hexanal was already found in herring paste and in white herring [80,107]. (Z)-4-Heptenal was perceived by 7 of the 13 judges. This alkenal would be formed during lipid oxidation, and it is characterized by a fishy off-flavor [67,204]. In a general way, alkanal and alkenals were known to contribute to the fatty-oily, slightly rancid odor of marine products [121]. Methional was sniffed by 11 of the 13 judges, while benzaldehyde was sniffed by all the panel members. On the one hand, methional is an aldehyde sulfur-

containing compound characterized by cooked potato notes, whose formation is associated to the Strecker degradation of methionine. Interestingly, it was the only sulfur-containing compound perceived by the panel. Surprisingly, other sulfur-compounds, such as methanethiol, dimethyl disulfide and dimethyl trisulfide, well-known for the considerable role they play in the odor of fishery products, were not identified in this study, while the two other sulfur-compounds, 2-acetylthiazole and benzothiazole, present in HMH were not sniffed by the panel [107,214]. Methional was already identified as an odorant compound in white herring [107]. On the other hand, benzaldehyde is an aromatic aldehyde characterized by almond, nutty or fruity aromas [67,89]. The two alkadienals, (E,E)-2,4-heptadienal and (E,Z)-2,6-nonadienal, were perceived by, respectively, five and 12 of the 13 judges. They both originate from lipid oxidation [60]. Aidos *et al.* (2002) found that (E,E)-2,4-heptadienal was representative of the oxidative status of herring oil [108]. (E,E)-2,4-heptadienal is characterized by fatty and fishy odors, while (E,Z)-2,6-nonadienal is reported to have a cucumber-like smell [62,67,118]. Nevertheless, it was reported that (E,Z)-2,6-nonadienal promotes a fishy off-flavor while it stands with other compounds [108]. Another group of chemical compounds that was well perceived by the panel was ketone compounds. More precisely, 2,3-pentanedione, (Z)-6-octen-2-one and 2-nonanone were sniffed by at least nine of the 13 judges. The presence of ketones can, similarly to aldehyde compounds, be attributed to lipid and/or amino acid degradation. Iglesias *et al.* (2009) mentioned that 2,3-pentanedione could be even used as an indicator of lipid oxidation in chilled fish muscle [214]. 2,3-Pentanedione is responsible for butter and fruity notes, while 2-nonanone is characterized by grass and green notes [12,62,107]. However, no data was found in the literature concerning the odor of (Z)-6-octen-2-one, and it seemed that this compound was never identified in marine products. Three hypotheses could be made to explain the perception of (Z)-6-octen-2-one in this study. The first one is that, as the hydrolysate studied in that case is an HMH, this compound may be a specific compound of this type of matrix. Nevertheless, as no study has been carried out so far regarding the volatile compounds of fish milt, to the best of our knowledge, it was not possible to confirm this first hypothesis. A second possible explanation could be that a wrong identification occurred. In fact, there is another ketone with a similar structure, 1-octen-3-one, that is highly reported in the literature for its fishy smell, but it was not identified in the case of this study [204]. Finally, the last explanation could be that the judges continued to perceive the odor of benzaldehyde, which was eluted just before (Z)-6-octen-2-one. Indeed, some studies already highlighted that the use of GC-O was not an exact science, and some mistakes could happen due to the fact that the odor detector of this method is the human nose [67,103]. Since (Z)-6-octen-2-one was identified by GC-MS with a match degree of 92%, and since no information was available in the literature regarding the duration of the smell of benzaldehyde, the hypothesis that seemed to be the

most plausible was that (Z)-6-octen-2-one was a specific odor-active compound of HMH. It is of interest to note that (E,E)-3,5-octadien-2-one, a ketone compound identified in this study but not perceived by the panel, is well recognized to contribute to fatty-fishy odors in fishery materials [80]. Finally, 1-Methyl-1H-tetrazole was also a compound detected by at least five of the 13 judges. 1-Methyl-1H-tetrazole is a cyclic nitrogen-containing compound. Similarly to (Z)-6-octen-2-one, no information was found in the literature concerning the odor and the presence of this compound in seafood materials. Moreover, the judge responses did not allow us to clearly distinguish if the smell of 1-methyl-1H-tetrazole was negative or positive. Therefore, it could be supposed that 1-methyl-1H-tetrazole was a specific odor-active compound of HMH. Except for (Z)-6-octen-2-one and 1-Methyl-1H-tetrazole, all the compounds perceived by the panel were already reported for their contribution to the odor of various fishery materials [15,62,67,81,90,104,118,121]. Interestingly, no compound belonging to the alcohol group was detected by the judges, particularly the alcohol compound 1-penten-3-ol. In fact, this compound, well-known to contribute to the fishy smell, was identified in HMH. However, it was not perceived by the judges as a contributor to the overall aroma of this hydrolysate. This could be explained by the fact that alcohols generally do not have a huge contribution to the overall aroma of food products due to their high odor detection thresholds [90,118,121,210]. This also explained the fact that no alkane and alkene compounds were perceived by the panel members.

Table 3-3. Most potent odor-active volatile compounds of HMH

RT (Min)	Compounds	No. of Judges ^a	Average Intensity ^b	No. of Judges Having Qualified the Odor as Bad or Good ^c		Odorant Properties ^d	
				Bad	Good	Descriptors	Odor Threshold (µg/kg)
7.200	3-Methylbutanal	13	4.0	5	6	Burnt, malted, dark chocolate	0.2–2.0
7.381	2-Methylbutanal	6	3.0	1	4	Burnt, malted, dark chocolate	1.0–3.0
7.739	1-Methyl-1H- tetrazole	9	2.0	5	3	-	-
7.918	2,3-Pentanedione	12	3.0	0	10	Butter, fruity	15–5505.6
8.009	Pentanal	7	2.0	3	4	Pungent	12–42
10.121	Hexanal	10	2.0	1	7	Green	5.0
12.114	(Z)-4-heptenal	7	3.0	5	2	Fishy	0.04–0.8
12.156	Heptanal	6	3.0	3	2	Green, rancid, fishy	0.7–2.9
12.338	Methional	11	3.0	5	5	Cooked potatoes	0.2
13.552	Benzaldehyde	13	3.0	9	3	Almond, nutty, fruity	41.7–4 600
13.680	(Z)-6-Octen-2-one	9	3.0	7	0	-	-
13.978	(E,E)-2,4- Heptadienal	5	2.0	3	2	Fatty, fishy	10–15.4
14.045	Octanal	7	3.0	1	6	Citrus, orange, fatty, fishy	0.6
15.526	2-Nonanone	12	4.0	8	3	Grass, green	200
16.642	(E,Z)-2,6- Nonadienal	12	3.0	4	6	Cucumber-like	1

^a Number of judges (out of thirteen) who have perceived an odor. ^b The average intensity given by the judges (out of thirteen) who perceived an odor. The average intensity was rounded to the nearest whole number i.e., an average intensity between 2.0 and 2.5 was rounded to 2.0, and an average intensity between 2.5 and 3.0 was rounded to 3.0. ^c The judges were asked to qualify the odor as bad or good. Sometimes the total number was inferior to those related to the number of judges having perceived an odor, since some of them simply considered the odor to be OK. ^d Odorant properties were indicated only when they were available. They were gathered from the following literature and online database : [12,60,62,79,81,89,90,118,121,122,125,204,210]; (<http://www.odour.org.uk>; <http://www.flavornet.org>).

3.3.2. Deodorization by ED

3.3.2.1. ED Parameters

3.3.2.1.1. pH

The evolution of the pH of both HMH and KCl recovery solutions during ED treatments in the four different conditions is shown in Figure 3-2. Firstly, independently of the conditions of the current and pH tested, the pH of hydrolysate solution during the four different ED treatment conditions was steady at pH 4 or 7. However, concerning the KCl recovery solution, its pH varied differently according to the current conditions applied ($p < 0.05$), the pH of the hydrolysate ($p < 0.05$), and a combination of current conditions and pH ($p < 0.05$). Hence, for the hydrolysate at pH 4 without current, the pH of the KCl recovery decreased from 7.13 ± 0.06 to 5.60 ± 0.60 ($p < 0.05$), while those with current rapidly decreased from 7.13 ± 0.08 to 3.57 ± 0.08 ($p < 0.05$) during the first twenty minutes, and then continued to steadily drop to reach the final value of 2.42 ± 0.03 . In the same time, regarding the treatment of hydrolysate at pH 7 without current, the pH of the KCl recovery solution remained steady at 7.06 ± 0.03 during all of the experiment, while with current, the pH of the KCl recovery increased rapidly from 7.09 ± 0.07 to 8.80 ± 0.65 ($p < 0.05$) during the first twenty minutes, and then continued to steadily rise to reach the plateau value of 9.50 ± 0.38 .

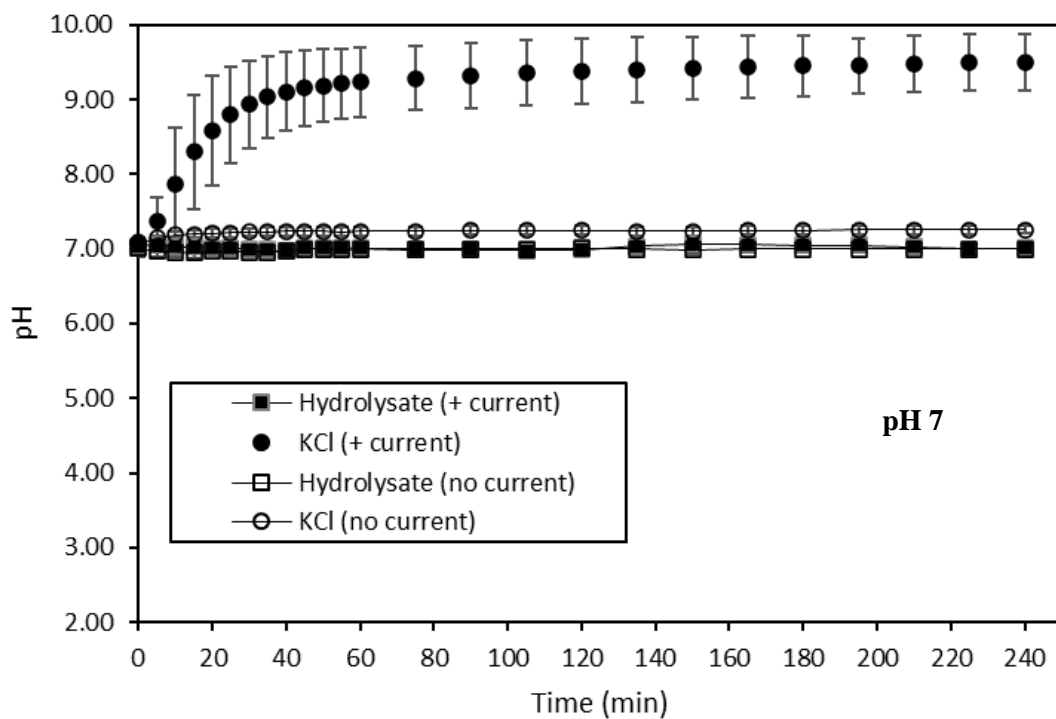
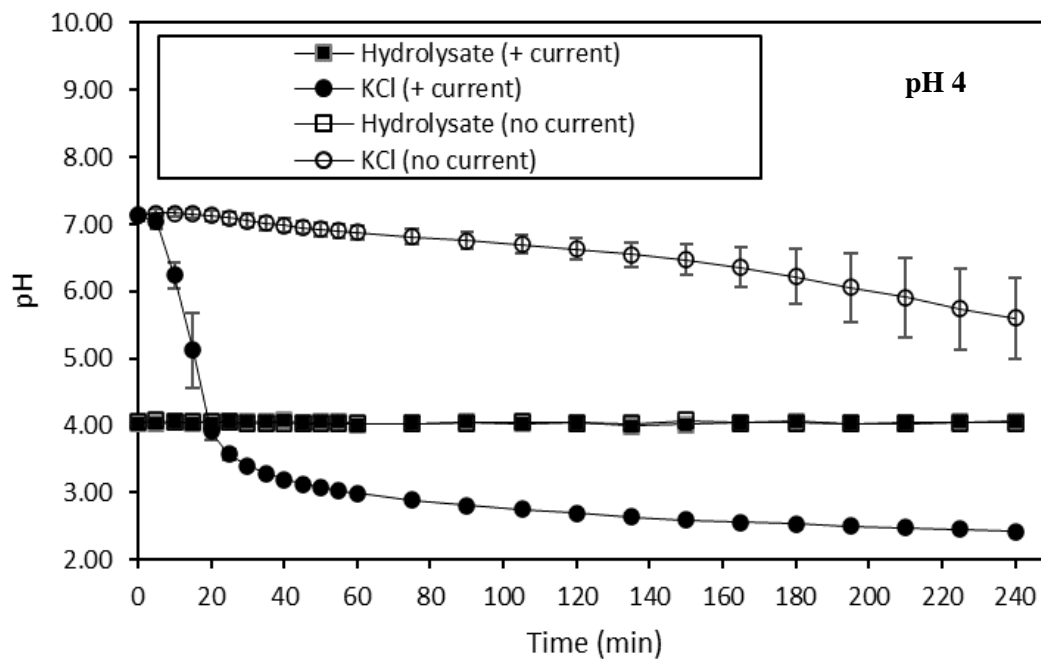


Figure 3-2. pH evolution in HMH solutions at pH 4 and 7, and in the corresponding KCl recovery solutions treated with and without current during ED treatments of 240 min

The steady value of the pH observed for the hydrolysate solution during the four ED treatments was consistent with the fact that the pH of this solution was constantly adjusted to the desired value. The slight decrease in pH noticed for the KCl recovery solution of the hydrolysate at pH 4 without current would suggest the potential diffusion of acid species through the CEMs. Indeed, as HCl was added to acidify the hydrolysate at pH 4, H⁺ coming from the dissociation of HCl molecules diffused to the KCl solution. However, the rapid decrease in pH during the first twenty minutes of the experiment of the KCl recovery solution with current at the same pH could indicate that water dissociation took place at an early stage. Indeed, even if HCl molecules were initially added to lower and then to maintain the pH of the hydrolysate at pH 4, the fact that the pH of the corresponding KCl solution rapidly dropped below that of the hydrolysate implied that the electromigration of H⁺ acid species coming from the dissociation of HCl molecules would not have been sufficient to obtain such a decrease. For this reason, the occurrence of water dissociation could be considered. Water dissociation leads to the formation of protons and hydroxyl ions at the IEM (AEM or CEM) diluate interfaces, bringing about a pH variation [215,216]. This phenomenon generally occurs when the electrolyte concentration near the diluate side of the membranes becomes close to zero, and is due to the reaching of the limiting current density (LCD). As a consequence, the usual mass transfer of ionic species is hampered, and water dissociation takes place [197]. In that case, the decrease in pH value observed in the KCl recovery solution could suggest that the dissociation of water was more important at the CEM interfaces than at the AEM ones [215]. Regarding the KCl solution for the hydrolysate at pH 7 without current, where no variation of pH was observed, on the contrary to pH 4, no diffusion of H⁺ occurred. However, in that case, the quantity of HCl required to maintain the pH value of the hydrolysate at pH 7 was lower than that which was necessary to maintain the pH value at 4. This might explain the difference observed between pH 4 and 7 conditions. Finally, regarding the KCl recovery solution of hydrolysate at pH 7 with current, the drastic pH increase during the first twenty minutes was due to a rapid migration of basic species. Similarly to the ED experiment conducted on hydrolysate at pH 4 with current, water dissociation took place [209,217]. Nonetheless, in the present case, the increase in pH in the KCl recovery solution was related to the migration of OH⁻ basic species. This implied that the dissociation of water was more intensive at the AEM interfaces than at the CEM ones [209,215,217].

3.3.2.1.2. Conductivity

The evolution of the conductivity of both HMH and KCl recovery solutions during the ED treatments in the four different conditions is presented in Figure 3-3. Firstly, the conductivity of the hydrolysate solution was mainly impacted by the current conditions ($p < 0.05$). The same trend was observed for the KCl recovery solution. Hence, when a current was applied on hydrolysate at pH 4, a decrease in the hydrolysate conductivity, from 4.57 ± 0.20 mS/cm to 3.40 ± 0.13 mS/cm, and an increase in the KCl solution conductivity, from 3.63 ± 0.07 mS/cm to 6.95 ± 0.13 mS/cm, were observed ($p < 0.05$). However, when the hydrolysate at pH 4 was treated without current, no change in conductivity of both the hydrolysate and the KCl recovery solutions was observed ($p > 0.05$). Regarding the ED treatment with current on hydrolysate at pH 7, a decrease in the conductivity of the hydrolysate, from 2.79 ± 0.06 mS/cm to 1.91 ± 0.11 mS/cm, and an increase in the conductivity of the KCl solution, from 3.69 ± 0.06 mS/cm to 5.10 ± 0.15 mS/cm, were also observed ($p < 0.05$), as for pH 4, but in a lower way. Finally, without current on hydrolysate at pH 7, no change was observed in the conductivity of both the hydrolysate and KCl recovery solutions, as for pH 4 ($p > 0.05$).

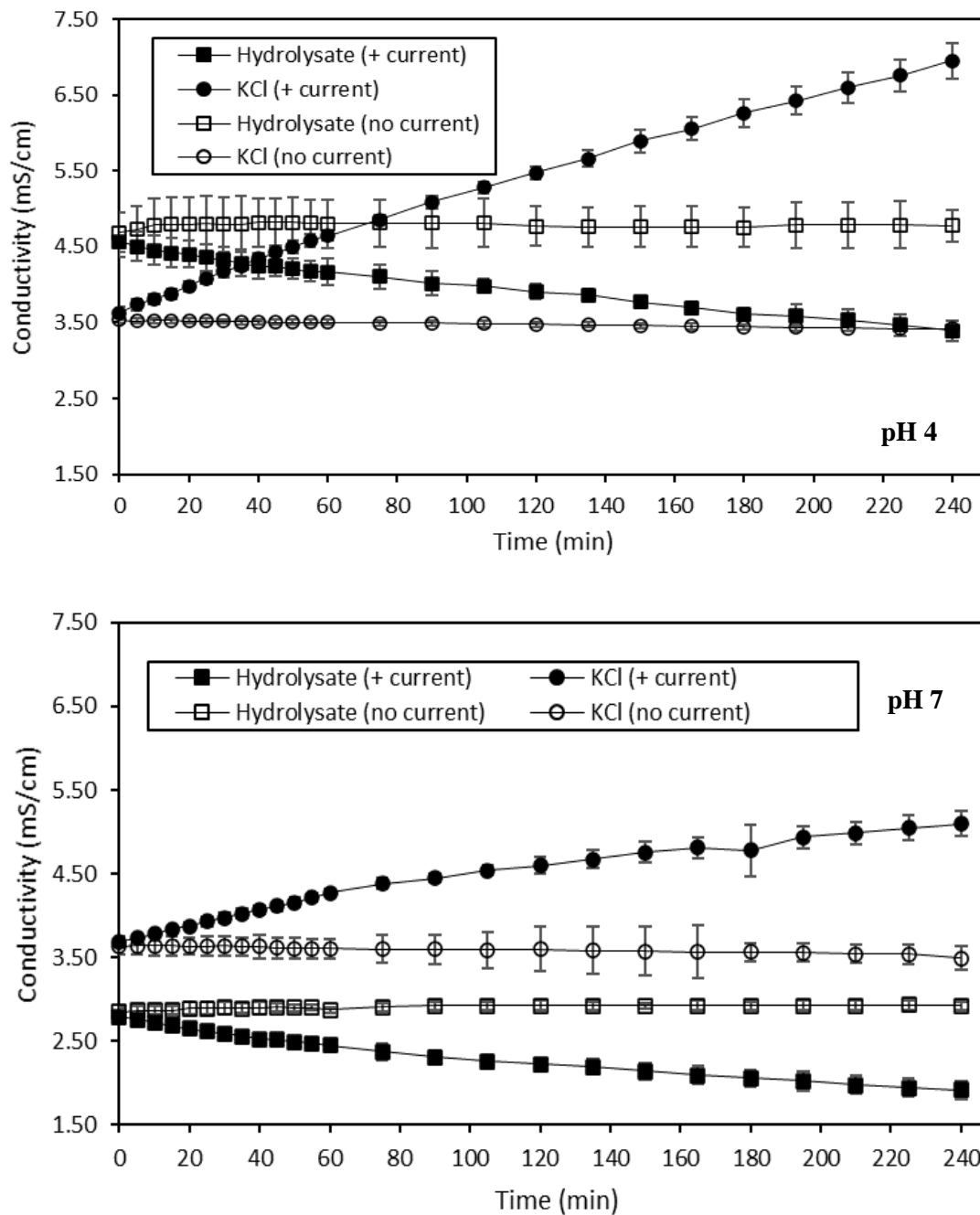


Figure 3-3. Conductivity evolution in HMH solutions at pH 4 and 7, and in the corresponding KCl recovery solutions, treated with and without current during ED treatments of 240 min

The decrease in conductivity observed for hydrolysate at pH 4 and 7 during the ED treatments conducted with current was representative of their demineralization, resulting in final respective DRs of $25.62 \pm 0.92\%$ and $31.45 \pm 2.49\%$. Compared to other demineralizations performed by ED using a similar configuration, these two DRs were quite low. Indeed, in their studies, Dufton *et al.* (2018) and Lemay *et al.* (2019) reached a final DR of almost 70% for acid and sweet whey, respectively [217,218]. However, as it was already mentioned, the fact that, in this present study, the pH of the hydrolysate was constantly adjusted to the desired pH value with HCl hindered the demineralization process. In addition, in accordance with the pH evolution observed, some water dissociation took place rapidly after the first twenty minutes of both of these treatments, thus counteracting the efficiency of the demineralization. Nevertheless, the conductivity of hydrolysate at pH 4 was surprisingly quite high, to totally justify the possible occurrence of water dissociation suggested by the pH evolution. Indeed, Dufton *et al.* (2018) noted the occurrence of water dissociation at an acid whey conductivity close to 3.0 mS/cm [217], whereas, in the case of HMH at pH 4, the water dissociation would have begun at a conductivity close to 4.0 mS/cm. On the contrary, the fact that the conductivity of the hydrolysate at pH 7 was lower than 2.5 mS/cm made the occurrence of water dissociation due to the limited availability of ionic species for electric current transport even more plausible [197,219]. Regarding the two KCl solutions of the ED treatments performed with current, the increase in their conductivity values was correlated to the demineralization of the corresponding hydrolysate solutions, and thus to their mineralization, resulting in final MRs of $48.67 \pm 0.50\%$ and $27.65 \pm 1.74\%$ for the KCl recovery solution corresponding to the treatment of hydrolysate at pH 4 and 7, respectively. As a comparison, Dufton *et al.* (2018) obtained an MR of 74% for the recovery compartment of their study dealing with the demineralization of acid whey [217]. The lower MRs obtained in the case of this study were in line with the lower DRs of the hydrolysate discussed previously. Moreover, the conductivity of the KCl solution for hydrolysate at pH 4 with current increased linearly. This suggests the continuous migration of ionic species, among them H^+ species, into the KCl compartment. However, it was less obvious to qualify the evolution of KCl conductivity as linear for the ED treatment conducted on hydrolysate at pH 7 with current, indicating that the H^+ migration would not be as continuous in that case. Finally, the absence of changes in the conductivity of the hydrolysate solutions at pH 4 and 7, and the corresponding KCl recovery solutions for the ED treatments conducted without current, showed that no demineralization and no mineralization occurred. This was in line with the fact that no current was applied. Concerning ED on the hydrolysate at pH 4 without current, the diffusion of H^+ suggested by the pH evolution was not perceived in terms of conductivity in that case. This observation was not consistent with the fact that H^+ species are known to impact conductivity [220]. However, the observed drop of pH was approximately of one

unit, meaning that this variation was caused by around 0.000001 M of H⁺ and, normally, the conductivity contribution of this ionic species would not have been perceived in 0.02678 M of 2 g/L KCl. The fact that such pH variation was visible suggests that the membrane integrity could have been altered by a potential fouling.

3.3.2.1.3. Ash Content

The ash content of HMH and KCl recovery solutions was analyzed, and is presented in Tables 3-4 and 3-5. The ash content of the hydrolysate solution was only impacted by the current conditions applied ($p < 0.05$). The same trend was observed for the KCl recovery solution. At the initial time, the ash content of hydrolysate at pH 4 was $0.478 \pm 0.005\%$. Hence, after ED with current, the ash content of the hydrolysate at pH 4 decreased to $0.400 \pm 0.048\%$ ($p < 0.05$), while no change was observed regarding the ash content of hydrolysate at pH 4 after ED without current ($p > 0.05$). Concerning the hydrolysate at pH 7, its ash content was $0.484 \pm 0.007\%$ at the initial time. This value was similar to those obtained for hydrolysate at pH 4 at the initial time ($p > 0.05$). After ED of the hydrolysate at pH 7 with current, the ash content decreased to $0.427 \pm 0.020\%$ ($p < 0.05$). The final ash contents of both hydrolysates at pH 4 and 7 after ED with current applied were similar ($p > 0.05$). However, ED carried out without current did not lead to any change in the ash content of the hydrolysate at pH 7 at the final time compared to the initial time ($p > 0.05$). With regard to the KCl recovery solution, its initial ash content was $0.166 \pm 0.007\%$. After ED with current on the hydrolysate at pH 4, the ash content of the KCl recovery solution rose to $0.240 \pm 0.022\%$ ($p < 0.05$). At the same time, the ash content of the KCl recovery solution for ED with current on hydrolysate at pH 7 increased as well, compared to the initial time, since the final value obtained in that case was $0.230 \pm 0.005\%$ ($p < 0.05$). The ash content of both KCl recovery solutions after ED with current on the hydrolysate at pH 4 and pH 7 was similar ($p > 0.05$). Finally, no change was observed in the ash content of KCl recovery solutions after ED of the hydrolysate at pH 4 and 7 without current, compared to initial time ($p > 0.05$).

The ash content of the hydrolysate at pH 4 and the hydrolysate at pH 7 at the initial time was surprisingly similar. Indeed, as the acidification of the hydrolysate to pH 4 required more HCl than the acidification to pH 7, it would have been more logical to obtain a higher value of ash content for the hydrolysate at pH 4 than for the hydrolysate at pH 7, due to the contribution of Cl⁻ species formed by the dissociation of HCl molecules. Nevertheless, the fact that the difference in HCl volume added to the initial hydrolysate to reach these two pH values was only in the order of a few milliliters might explain this result. The lower ash content of the hydrolysate at pH 4 and 7 after ED with current was

related to their demineralization. This observation was in line with the decrease in the conductivity of these two solutions, as described previously. Based on the initial and final ash content values, the DRs obtained for the hydrolysate at pH 4 and for the hydrolysate at pH 7 was $16.71 \pm 4.59\%$ and $11.62 \pm 4.71\%$, respectively. However, these two DR values were not consistent with those of $25.62 \pm 0.92\%$ for the hydrolysate at pH 4 and those of $31.45 \pm 2.49\%$ for the hydrolysate at pH 7, determined by means of the conductivity measurements. This discrepancy between the DR values would confirm the occurrence of water dissociation during these two ED treatments. Indeed, it was already observed that the calculation of DR based on conductivity values could be biased in the case of water dissociation, since this phenomenon leads to the formation of ionic species, namely H^+ and OH^- , impacting the conductivity but not the ash content [220]. Regarding the corresponding KCl solutions, their increase in ash content was correlated to their mineralization. This was consistent with the increase in their conductivity mentioned before. For the KCl recovery solutions, based on their ash content values, the corresponding MRs were $29.27 \pm 3.40\%$ and $28.87 \pm 3.24\%$ for the hydrolysate at pH 4 and 7, respectively. However, the MRs obtained in the case of the conductivity measurements were $48.67 \pm 0.50\%$ and $27.65 \pm 1.74\%$ for the KCl recovery solutions after ED of the hydrolysate at pH 4 and 7, respectively. If the MRs of the KCl recovery solution of the hydrolysate at pH 7 were similar in both cases, at pH 4 they were highly different depending on the equation used to calculate them. This could suggest that a higher migration of H^+ species took place in the KCl recovery solution during ED of the hydrolysate at pH 4 with current. As explained previously, the MR of the KCl recovery solution was overestimated, based on conductivity values [220]. This could also explain why the conductivity evolved linearly for the KCl solution during ED with current of the hydrolysate at pH 4, but not for the KCl with current at pH 7. Finally, the fact that the ash content of the hydrolysate at pH 4 and 7 after the ED treatments without current remained unchanged compared to initial time was in line with the absence of demineralization, since no current was applied. This also explained the fact that no change was observed in the ash content of the corresponding KCl solutions.

Table 3-4. Ash content of the HMH at the initial time and after the different ED treatments (mean \pm standard deviation)

	pH 4			pH 7		
	Initial time	Final time (ED + current)	Final time (ED no current)	Initial time	Final time (ED + current)	Final time (ED no current)
Ash content (%)	0.478 ± 0.005^a	0.400 ± 0.018^c	0.460 ± 0.020^{ab}	0.484 ± 0.007^a	0.427 ± 0.020^{bc}	0.462 ± 0.017^{ab}

Values within the same row with different letters (a-c) are significantly different $p < 0.05$ (Tukey test)

Table 3-5. Ash content of the KCl recovery solution at initial time and after the different ED treatments (mean \pm standard deviation)

	pH 4		pH 7		
	Initial time	Final time (ED + current)	Final time (ED no current)	Final time (ED + current)	Final time (ED no current)
Ash content (%)	0.166 \pm 0.007 ^b	0.240 \pm 0.022 ^a	0.140 \pm 0.023 ^b	0.230 \pm 0.005 ^a	0.167 \pm 0.016 ^b

Values within the same row with different letters (a-c) are significantly different, $p < 0.05$ (Tukey test)

3.3.2.1.4. Global System Resistance

The global system resistance evolutions of ED treatments conducted at pH 4 and 7 with current are shown in Figure 3-4. Regarding the treatment conducted at pH 4, the global system resistance increased significantly from $25.00 \pm 0.00 \Omega$ to $88.89 \pm 9.62 \Omega$ ($p < 0.05$), while those concerning the treatment carried out at pH 7 increased significantly from $33.33 \pm 0.00 \Omega$ to $125.00 \pm 0.00 \Omega$ ($p < 0.05$). Moreover, for both treatments, the increase in global system resistance was even more visible after the first twenty minutes of treatments.

The ED treatments performed on the hydrolysate at pH 4 and 7 presented a 3.5-fold increase and a 3.75-fold increase in global system resistance, respectively. Dufton *et al.* (2018) experienced a similar increase in global system resistance during the demineralization of acid whey by ED [217]. Such an increase in global system resistance could not only be due to the demineralization process but also to the occurrence of water dissociation as a cause or as a consequence of potential membrane mineral and/or protein fouling, as previously observed by Dufton *et al.* (2018) [217]. This is corroborated by the fact that this increase in global system resistance for both ED treatments took place at the same time as the changes in pH evolution mentioned previously. Another interesting point to mention was that, during ED performed on hydrolysate at pH 7, the intensity dropped considerably after the first twenty minutes (data not shown). The decrease in intensity was representative of a lack of ionic species to carry the electric current, and was thus consistent with the increase in global system resistance that was even more visible after the first twenty minutes of treatment. This observation was in line as well with the lower conductivity of the hydrolysate at pH 7 noted rapidly after the beginning of the treatment, suggesting that the LCD was reached. This could explain why the global system resistance was, in that case, so high. However, the fact that the global system resistance of ED conducted on the hydrolysate at pH 4 was lower could indicate that, at that stage, it was still not possible to clearly identify whether the LCD was reached and thus explain the water dissociation.

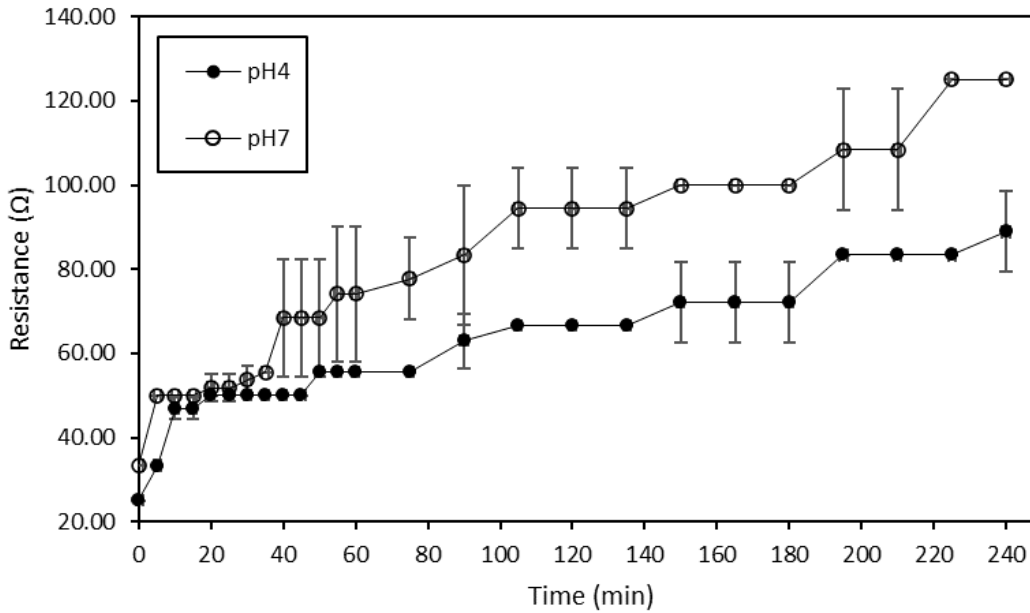
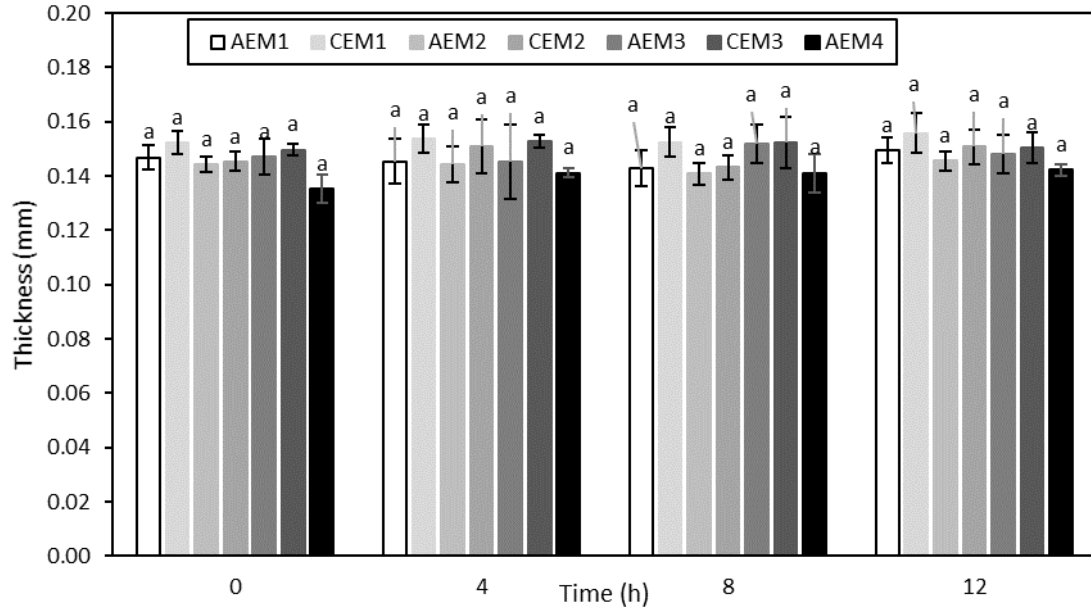


Figure 3-4. Global system resistance evolution during ED treatments of 240 min at pH 4 and pH 7, with current

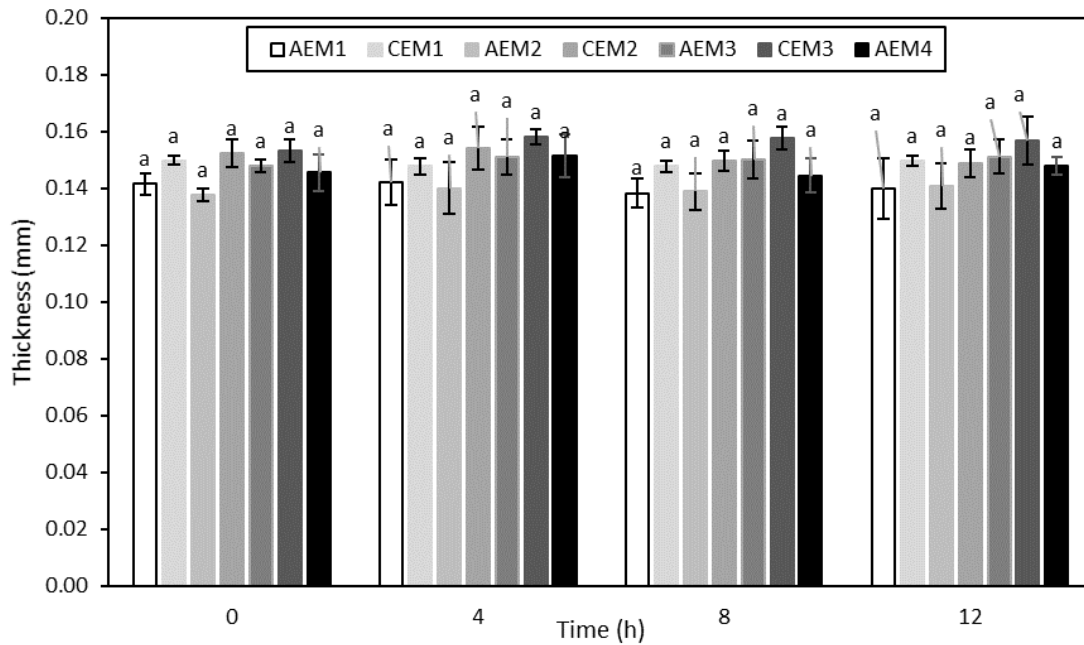
3.3.2.1.5. Membrane Thickness

The evolution of the membrane thickness over the different ED treatments is shown in Figures 3-5 and 3-6. None of the membranes evidenced an increase in thickness over ED, with and without current, performed on the hydrolysate at pH 4 ($p > 0.05$) (Figure 3-5). Regarding the ED treatments carried out on the hydrolysate at pH 7, both AEM1 and CEM3 showed an increase in thickness ($p < 0.05$) for the experiment without current, while only AEM4 presented an increase in thickness ($p < 0.05$) for the experiment with current (Figure 3-6).

Membrane thickness is an indicator of membrane integrity, and more particularly of membrane fouling [217]. This could indicate that no fouling occurred during ED treatments on the hydrolysate at pH 4, showing the efficiency of the NaCl rinsing after each run. This was consistent with the visual observations of the membranes after each run as well. However, even if a few membranes evidenced an increase in thickness after the ED treatments on the hydrolysate at pH 7, the final membrane thickness values were still representative of those reported in the literature. Indeed, Lemay *et al.* (2019) reported average values of 0.142 ± 0.006 mm and 0.141 ± 0.005 mm for AEMs and CEMs, respectively [209]. Therefore, based on membrane thickness evolution, no fouling phenomena seemed to happen at that stage regarding the treatments on the hydrolysate at pH 7.

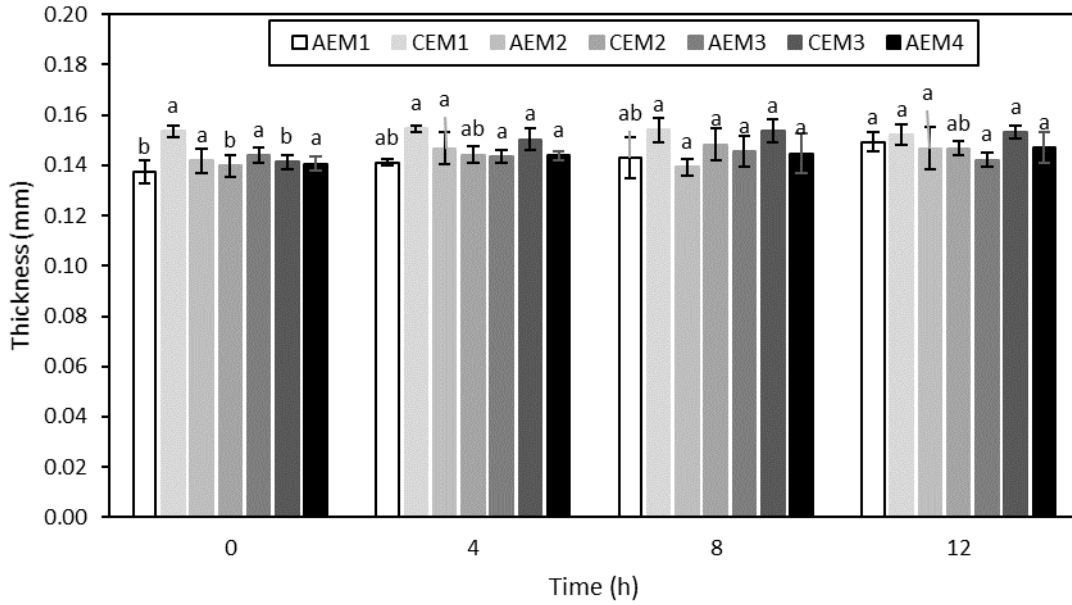


(a)

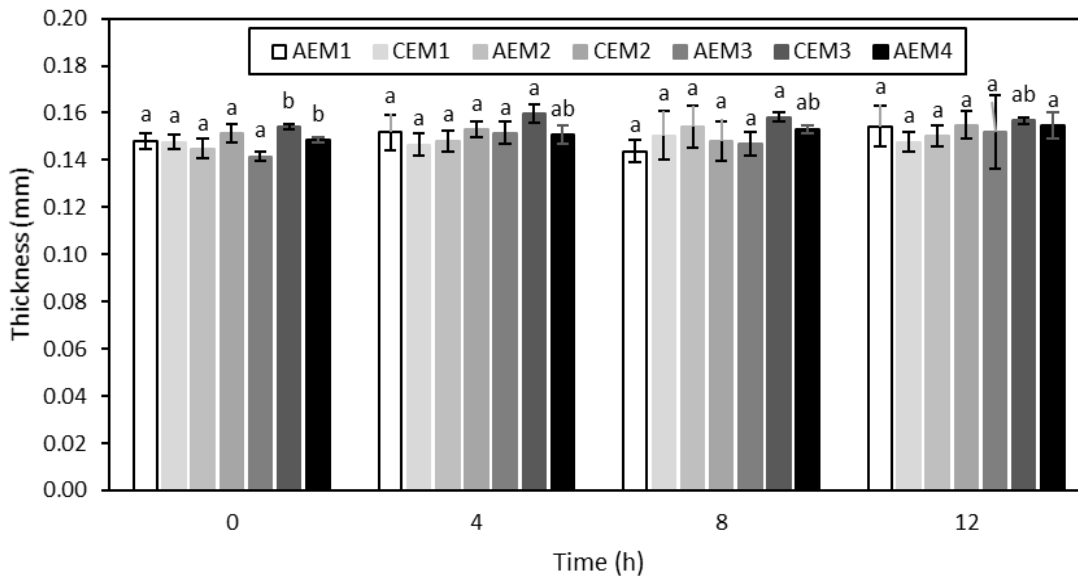


(b)

Figure 3-5. Membrane thickness before and after each 4-h ED treatment conducted at pH 4, (a) without current and (b) with current. Values with different letters corresponding to the same membranes are significantly different $p < 0.05$ (Tukey test)



(a)

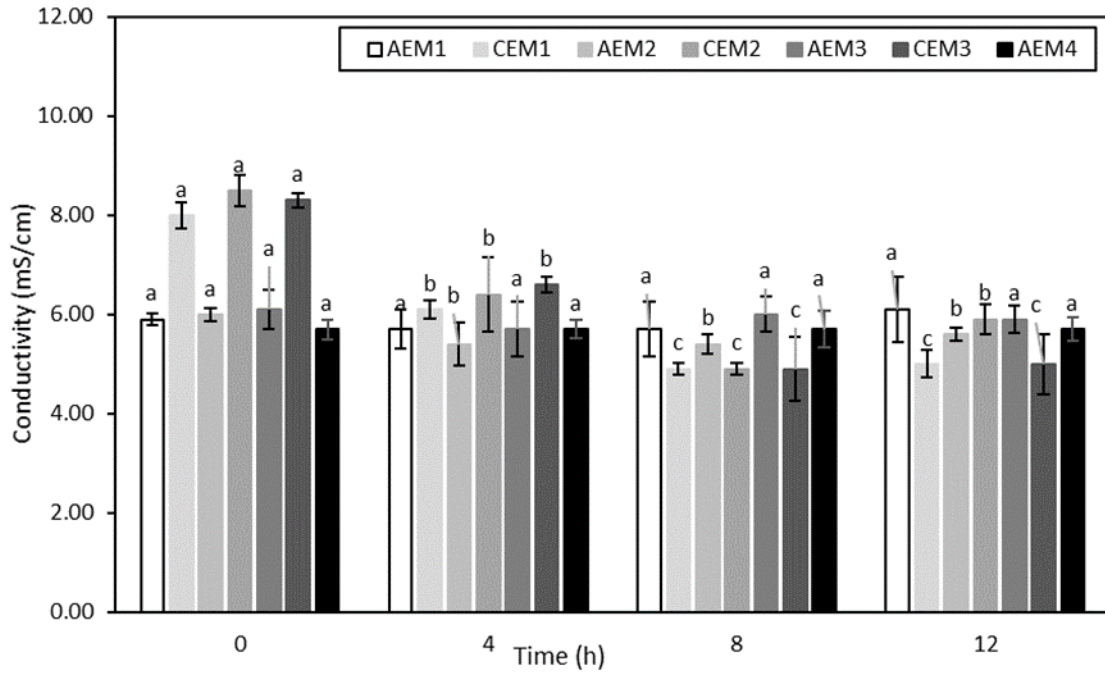


(b)

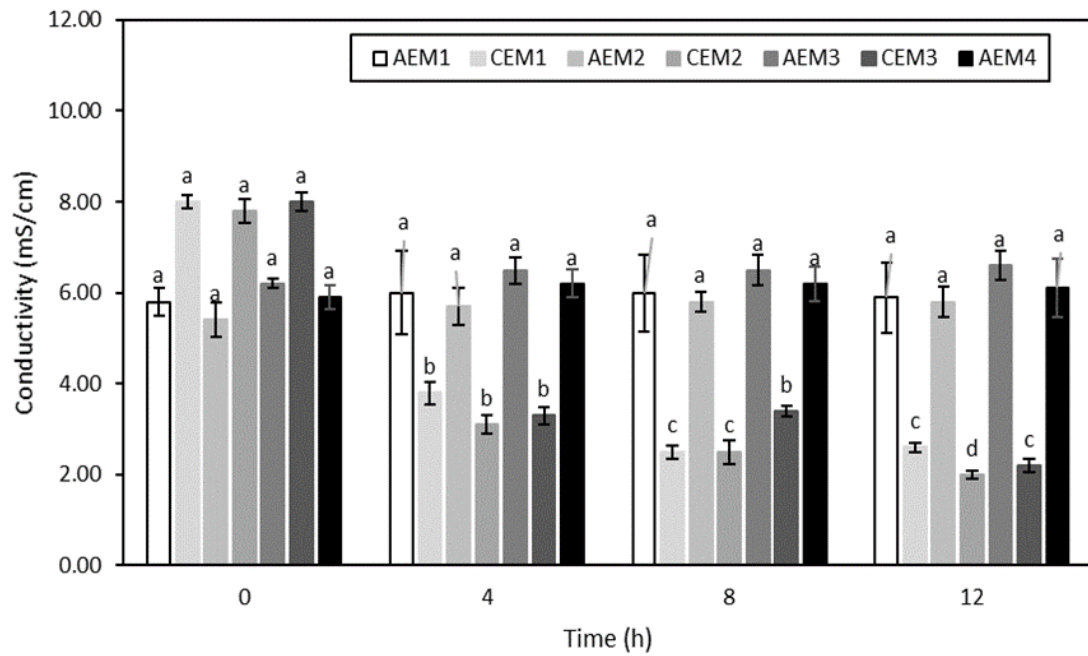
Figure 3-6. Membrane thickness before and after each 4-h ED treatment conducted at pH 7, (a) without current and (b) with current. Values with different letters corresponding to the same membranes are significantly different, $p < 0.05$ (Tukey test)

3.3.2.1.6. Membrane Conductivity

The membrane conductivity evolution over the different ED treatments is presented in Figures 3-7 and 3-8. Regarding ED conducted on the hydrolysate at pH 4, AEM2 and all the CEMs for the experiment conducted without current, and all the CEMs only for the experiment conducted with current, evidenced a decrease in their conductivity over time ($p < 0.05$) (Figure 3-7). Concerning ED on the hydrolysate at pH 7, AEM3, AEM4 and all the CEMs for the experiment without current, and all the AEMs except AEM4 and all the CEMs for the experiment using current, experienced a decrease in their conductivity over time ($p < 0.05$) (Figure 3-8).

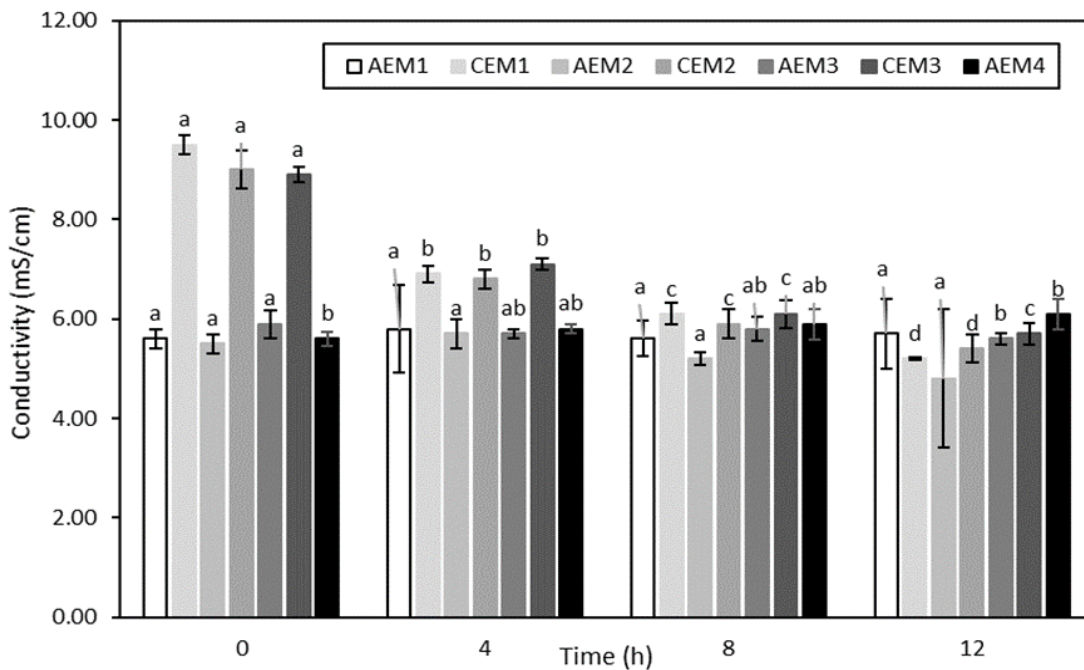


(a)

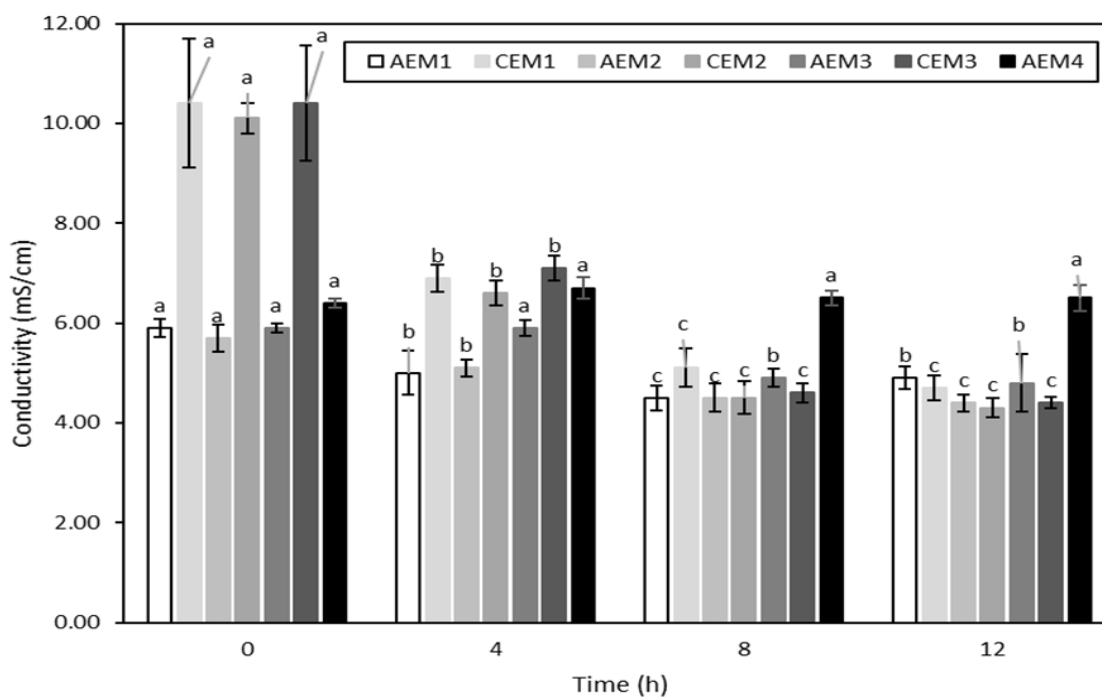


(b)

Figure 3-7. Membrane conductivity before and after each 4-h ED treatments conducted at pH 4, (a) without current and (b) with current. Values with different letters corresponding to the same membranes are significantly different $p < 0.05$ (Tukey test)



(a)



(b)

Figure 3-8. Membrane conductivity before and after each 4-h ED treatments conducted at pH 7, (a) without current and (b) with current. Values with different letters corresponding to the same membranes are significantly different $p < 0.05$ (Tukey test)

Similarly to membrane thickness evolution, the evolution of membrane conductivity can be considered to be an indicator of membrane integrity [217]. Firstly, the conductivity of both CEMs and AEMs before any run was comparable to the following values reported in the literature: 5.197 ± 0.257 ms/cm and 8.960 ± 0.442 mS/cm for AEMs and CEMs, respectively [209]. Then, all the four ED conditions evidenced a change in membrane conductivity as a function of time. In their study, Lemay *et al.* (2019) also noted a decrease in membrane conductivity after sweet whey demineralization [209]. In that case, the observed drop was attributed to the substitution of the counterions present in the initial membranes by divalent ionic species of the sweet whey having lower conductivity values, resulting in a decrease in membrane conductivity [209]. Nonetheless, in the present study, the fact that membranes evidenced a decrease in conductivity not only after the ED treatments conducted with current but also after those performed without current may suggest that another explanation could be involved. More specifically, regarding the ED treatments carried out on hydrolysate at pH 4, a decrease in membrane conductivity was already noted after the first run. This could indicate that, independently of the current conditions, ionic compounds present in the hydrolysate solution interacted with the membranes. Indeed, previous works have already showed that charged compounds such as peptides and amino acids could interact with the boundary layers of membranes [215]. As the decrease in membrane conductivity was mainly observed for CEMs, this means that the compounds involved were cationic and interacted with the negatively charged sulfonic groups present in the CEMs. More specifically, Persico *et al.* (2017) showed in their study the ability of peptides containing histidine (pKa of 6.0), lysine (pKa ~ 10.5) and arginine (pKa ~ 12.5) residues, in addition to their amine group at the N-term (pKa ~ 9.8), to interact electrostatically with the negatively charged sulfonic groups of CEMs due to the positive charges they carry, even when no current was applied [221]. Free arginine could even be considered to be a major agent responsible for the fouling of CEMs [222]. Since HMH is mainly composed of amino acids containing materials (Table 3-1) including a high amount of arginine in both bound and free forms [7], the important decrease observed in the CEM conductivity could be explained by the neutralization of the fixed membrane charges by these molecules, among them arginine amino acid. At that stage, it is worth to mention that, after each run, NaCl rinsing was performed. The aim of such rinsing was to reduce the electrostatic interactions occurring between the ionogenic constituents of the membranes and amino acids containing materials from the hydrolysate due to the high ionic strength of the salt rinsing solution [223]. However, the fact that fouling was observed even after this rinsing indicates that other interactions than electrostatic ones could be involved between the ionogenic groups of membranes and components from the hydrolysate. This suggests that hydrophobic interactions could be involved between volatile compounds and membrane constituents as well, as that type of interaction was not

impacted by NaCl rinsing [223]. This hypothesis was already formulated in the studies of Cros *et al.* (2005) and Chindapan *et al.* (2011), in which they ascribed the decrease in the abundance of certain volatile compounds to hydrophobic interactions occurring with membrane components [15,16]. In addition, the observed decrease in membrane conductivity could be explained by another phenomenon. Indeed, it was already shown that, depending on the nature of the groups from both the membranes and the matrix present at the membrane interface, the catalysis of water dissociation during an ED treatment could take place even if the LCD was not reached [215,224]. More precisely, at the CEM interface, the catalytic action of carboxylic acid present at the C-term of the peptides was already proven [215]. Therefore, the decrease in pH observed in the KCl recovery solution corresponding to the ED treatment of the hydrolysate at pH 4 with current, and the increase in its conductivity, could be effectively due to the occurrence of water dissociation resulting from the action of cationic catalysts compounds, such as peptides or free amino acids involving a carboxylic group, at the boundary layers of the CEMs. On the contrary, for ED of the hydrolysate at pH 4 without current, since a decrease in the CEM conductivity was evidenced, but with no huge pH change of the KCl solution, this could suggest that the interaction of cationic compounds took place, resulting in membrane fouling without bringing about water dissociation due to the absence of current. Regarding ED on the hydrolysate at pH 7, since both AEMs and CEMs presented a decrease in conductivity for both current conditions applied, this may suggest not only that cationic compounds interacted with CEMs but also anionic ones with ammonium groups of AEMs. This observation was consistent with the study of Persico *et al.* (2016), in which it was observed that fouling of AEMs was absent at acidic pH, while it tended to be more important at a pH close to neutral [223]. This was due to the fact that, at a pH close to neutral, negative residues of carboxylic acid present at the C-term ($pK_a \sim 2.1$) of peptides, or at the side-chains of aspartic and glutamic acids ($pK_a \sim 4.0$), were able to interact electrostatically with the positively charged ammonium groups of AEMs [223]. As both aspartic and glutamic acids are present in HMM, in both bound and free forms [7], they could have been responsible for the fouling observed on the AEMs due to their carboxylic acid residues leading to the observed decrease in conductivity. Nevertheless, as noted for CEMs, the fact that fouling was evidenced even after the NaCl rinsing could suggest that other interactions than electrostatic ones could be involved. Moreover, similarly to what was mentioned previously as well, water dissociation phenomena could have taken place at the interface of AEMs, due to the catalytic action of both compounds present in the AEMs and in the hydrolysate [215,224,225]. More precisely, the conversion of the initial quaternary ammonium groups ($-N^+(CH_3)_3$) present in the AEMs into tertiary ($=N(CH_3)_2$) or secondary amine ($\equiv N(CH_3)$) is a factor accelerating water dissociation due to the lone electron pair carried by the newly formed groups [215,225]. Weak-acid anions [224], such as glutamic

and aspartic residues present in the studied hydrolysate, can catalytically accelerate the water dissociation as well. Furthermore, this hydrolysate also contains nucleic acids that carry a negative charge due to the presence of phosphoric acid in its anion form. Therefore, nucleic acids could have also established interactions with AEMs, or could have played a role in the catalysis of water dissociation. At this stage, it is worth to mention that the occurrence of water dissociation due to the generation of H^+ and OH^- could be a factor promoting membrane fouling by increasing the interaction with amino-containing materials at the membrane interface [226]. In addition, the fact that both types of IEM were fouled for the condition at pH 7 could explain why the global system resistance increased more significantly than those during the ED treatment conducted on the hydrolysate at pH 4. Another interesting point to note is that the standard deviations corresponding to the global system resistance of the ED treatment of the hydrolysate at pH 7 were quite important compared to those displayed for the ED treatment of the hydrolysate at pH 4. This would probably be due to the progressive decrease in conductivity observed for both types of IEM. It is worth to mention that at that stage, the potential interactions occurring between constituents of the studied hydrolysate, including volatile compounds and the IEM, seemed to be the most plausible explanation. Therefore, the occurrence of water dissociation observed during the ED treatment of the hydrolysate at pH 4 with current could be due more to the action of catalysts than to the reaching of the LCD.

3.3.2.2. Hydrolysate and Recovery Solutions Analyses

3.3.2.2.1. Volatile Compound Analysis

3.3.2.2.1.1. Most Potent Odor-Active Compounds

The abundance of compounds determined to be the most potent odorants of the HMH over the different ED and deaerator treatments is shown in Table 3-6. Firstly, concerning the composition of the hydrolysate at the initial time, the results indicate that pH had an important impact on the volatile compounds' abundance. It appeared that the abundance of the majority of the most potent odor-active molecules significantly decreased while pH increased from 4 to 10. For example, the abundance of 3-methylbutanal, 2,3-pentanedione, pentanal, hexanal, (Z)-4-heptenal, heptanal, methional, (Z)-6-octen-2-one, (E,E)-2,4-heptadienal, octanal, 2-nonanone and (E,Z)-2,6-nonadienal dropped by at least 50% between the hydrolysate at pH 4 and the hydrolysate at pH 10 at the initial time ($p < 0.05$). 1-methyl-1H-tetrazole was the only compound that did not follow this trend. In fact, it was identified in the hydrolysate at pH 7, but it was not present in the hydrolysate at pH 4 and pH 10. In general, pH is known to be a major factor influencing the content of volatile compounds. Indeed, volatile compounds are able to interact with molecules like lipids through hydrophobic interactions, and

amino acids constituents such as proteins, peptides and free amino acids through covalent irreversible bindings, in addition to hydrophobic and ionic interactions [129,148,227]. Among these different interactions, those taking place between volatile compounds and amino-acid containing compounds are the most impacted by pH, as this factor modifies the conformation and charge of proteins, peptides and free amino acids, and thus the ability of binding of volatile compounds [148]. Based on this fact, two hypotheses can be made concerning the general decrease in volatile compounds observed while pH increased. The first could be that alkaline pH might be responsible for the breaking of interactions taking place between volatile compounds and amino groups. As the targeted compounds are volatile, breaking these interactions could promote their loss. On the contrary, the second could be that the lower abundance of volatile compounds observed in the HMH at pH 10 at the initial time may be representative of a higher interaction with amino acid materials. As no study has been carried out regarding the impact of pH on the retention of volatile compounds by amino acid constituents from HMH materials so far, it was not obvious to clearly validate one hypothesis rather than the other. Nevertheless, some studies with similar purposes were already conducted on milk proteins [140,141], as well as on animal tissues proteins and peptides [148,151]. These studies showed that there was a general trend of amino acid containing molecules, such as peptides, to retain volatile compounds to a higher extent while pH increased. Several explanations are involved, depending on the proteins. For example, the milk protein β -lactoglobulin is reported to bind a larger proportion of volatile compounds at pH 9 than at pH 3. The increase in retention ability is, in this case, explained by better access to the hydrophobic amino acid residues of β -lactoglobulin due to conformation changes occurring under alkaline conditions [129,140]. Interestingly, leucine, a hydrophobic amino acid, is present in both β -lactoglobulin and HMH. Leucine is even present in high proportion in the latter (Table 3-1). It could be suggested that leucine might participate in the retention of volatile compounds, and while pH increases, the loss of the proton H^+ on the amine group could promote this phenomenon. Independently of pH, Meynier *et al.* (2004) observed the unavailability of lysine and histidine of milk proteins in the presence of aldehydes, suggesting a potential interaction occurring between these amino acids and volatile compounds. It was proposed to explain this loss that the carbonyl group of aldehydes could react with the primary amine of lysine either by Michael addition or by Schiff base formation. Concerning histidine, it was suggested that aldehyde and, preferentially, alkenal could react with the imidazole ring of histidine [154]. Since among the 15 compounds identified as being the most potent odor-active of HMH, 11 are aldehydes and one of them is an alkenal, namely (Z)-4-heptenal, and since lysine and histidine are both present in this product (Table 3-1), it could be possible that these interactions occur between these volatile compounds and these amino acids. Histidine is also a constituent of carnosine, a dipeptide found in animal tissues, and

whose ability to retain volatile compounds is also known to increase while pH increases [148]. In that case, as pH affects the retention of volatile compounds, it could be proposed, similarly to leucine, that the loss of the proton H^+ on the imidazole ring occurring under alkaline conditions could promote the interaction between histidine and aldehydes. Interestingly, HMH contains a high amount of arginine (Table 1-1), which is an amino acid with an amine-containing side-chain similar to lysine and histidine. Based on this, it should be proposed that arginine was also involved in the interactions, explaining partially the decrease in volatile compound abundance observed. Therefore, the hypothesis that seemed to be the most plausible regarding the decrease in the abundance of volatile compounds at pH 10 compared to pH 4 and pH 7 would be those implying a higher degree of interaction occurring between volatile compounds and amino acid containing compounds, such as peptides present in the hydrolysate. In that case, the fact that 1-methyl-1H-tetrazole was not detected in the hydrolysate at pH 4 and 10 might suggest that this compound could have more interactions at these pH values than at pH 7, allowing its detection at this pH value only. Also, it is of interest to mention that, while volatile compounds are bound to other components, both their release and perception are hindered [148]. This means that HMH should be globally less odorous at pH 10 than at pH 4 and pH 7.

Then, regarding the ED treatments, no significant difference was globally observed between the hydrolysate at a given pH at the initial time and the hydrolysate treated with or without current at the final time. More precisely, if attention is paid to the ED treatments conducted without current, the fact that no decrease in the content of the targeted volatile compounds was observed would suggest that a simple circulation of the hydrolysate solution for 240 min, independently of its pH, was not sufficient enough to allow a loss of these molecules due to their volatile state. Concerning ED conducted with current, no change in the content of volatile compounds occurred except for (Z)-6-octen-2-one, (E,E)-2,4-heptadienal and (E,Z)-2,6-nonadienal whose abundance was inferior at final time for ED on the hydrolysate at pH 4 ($p < 0.05$). These results could be representative of the non-migration of volatile compounds. Since ED is a process based on the migration of charged compounds, and since the targeted compounds were not supposed to be charged under the conditions tested, it was not surprising, at the first glance, to obtain such results. However, in their studies, Cros *et al.* (2005) and Chindapan *et al.* (2011) observed that an ED treatment could lead to a drop of volatile compounds even if they are not charged [15,16]. Several points could explain the discrepancy between these two studies and the present one. The first could be that the compounds whose abundance dropped during ED treatments in the studies of Cros *et al.* (2005) and Chindapan *et al.* (2011) were not the same compounds targeted in the present study. Indeed, Cros *et al.* (2005) observed a significant decrease in the non ionizable (Z)-4-heptenal, 2,3-butanedione, 3-octen-2-one

and limonene compounds. The only compound that this study and the present one had in common was (Z)-4-heptenal. Nevertheless, it is noteworthy to mention that Cros *et al.* (2005) noticed the important decrease of the compounds listed before only while the LCD was reached. Different hypotheses were formulated to explain such a decrease under this specific condition in this study. The first was that the formation of protons H^+ and hydroxyls OH^- resulting from water dissociation under this critical condition could have altered volatile compounds, explaining their decrease. Another was that the LCD could have also brought about a local membrane heating, potentially leading to a thermal degradation of volatile compounds. Or, simply, the volatile compounds could have been adsorbed on the membranes through hydrophobic and ionic interactions [16]. The migration of these molecules was not considered to be a potential explanation, as none of them were found in the recovery solution. Regarding (Z)-4-heptenal only, Cros *et al.* (2005) hypothesized its hydrogenation in heptanal as a possible explanation for its decrease [16]. Since not all the ED treatments conducted in the present study seemed to have evidenced reaching LCD, it was not possible to totally verify all the hypotheses formulated by Cros *et al.* (2005). However, as suggested by the analyses of the parameters of the ED treatment conducted on the hydrolysate at pH 7, it seems that this condition experienced the reaching of LCD. As no change regarding the volatile compound content was observed in that case, it may indicate that the LCD was not a sufficient condition to lead to a decrease in the abundance of these compounds. In addition, the fact that both ED treatments conducted with current presented water dissociation in the present study could show that the generation of H^+ and OH^- species could not be effectively responsible for the alteration of the volatile compounds. On the contrary to Cros *et al.* (2005), Chindapan *et al.* (2011) did not reach the LCD condition in their study. Despite this fact, they observed a significant decrease in 2,6-dimethylpyrazine, phenol and carboxylic acids (acetic acid, butanoic acid, 2-methylbutanoic acid, pentanoic acid, 4-methylpentanoic acid) while the ED treatment was performed, to reach a salt concentration of 2% in the treated fish sauce. Chindapan *et al.* (2011) gave two main reasons for the loss of these compounds: either their adsorption on the membranes or their transport through the membranes occurring at the same time as electroosmosis. Nevertheless, as no mention concerning the composition of the recovery solution was made, it was not possible to know if the latter reason was plausible in that case [15]. Concerning the decreased in (Z)-6-octen-2-one, (E,E)-2,4-heptadienal and (E,Z)-2,6-nonadienal observed in the hydrolysate at pH 4 treated with current at final time, three hypotheses could be made, based on those previously mentioned. The first one would be that a slight loss of these molecules due to their volatile state happened during the ED process. However, as no decrease of these compounds was observed for other conditions, this hypothesis does not seem highly plausible. The second hypothesis would be that preferential interactions occurred at pH 4 between these three volatile compounds and other

constituents of the HMH. Finally, the last hypothesis would be that these compounds preferentially adsorb on the membranes due to hydrophobic interactions. This last hypothesis appears to be the most probable, based on the membrane conductivity evolution discussed previously.

The content in volatile compounds of the KCl recovery solutions was analyzed for each condition, and is listed in Table 3-7. The results show the unchanged presence of 3-methylbutanal, hexanal, heptanal, benzaldehyde, octanal and 2-nonanone in KCl solution at final time independently of the ED treatment. It is worthwhile to mention that none of these compounds were detected in the KCl solution at the initial time. Except for benzaldehyde and hexanal, in all cases, the presence of volatile compounds in the recovery solution can be considered to be trace. This should probably be due to a punctual contamination of these compounds due to their volatility from the hydrolysate to the KCl solution. The fact that this phenomenon could be considered to be punctual was accredited by the generally high values of standard deviations proportionally to those of means, and even sometimes the higher values of standard deviations compared to the corresponding means. However, another explanation could be involved for hexanal and benzaldehyde. Regarding hexanal, its presence in the KCl solution could be due to its diffusion or migration. However, based on the membrane conductivity analysis discussed previously, it seemed that some interactions with membrane components also occurred during the different ED treatments. Therefore, another explanation could be that hexanal may have interacted with the sulfonic groups present in the CEMs, resulting in its release into the KCl compartment thereafter. Interestingly, the same trend was not found for compounds similar to hexanal, such as pentanal and heptanal. In that case, the differences observed should probably be due to the presence of hexanal in higher quantity in HMH, compared to pentanal and heptanal. Regarding benzaldehyde, the same explanations as those mentioned for hexanal could be involved. Nevertheless, on the contrary to hexanal, the fact that benzaldehyde was found in higher abundance only in KCl solution of the hydrolysate at pH 4 treated with current may indicate that a special mechanism was involved in that case. Initially, as benzaldehyde is not charged, it was not supposed to migrate. However, its recovery in the KCl solution might suggest that benzaldehyde could have either established interactions with another positively charged constituent that migrated into the CEMs, or that benzaldehyde established an interaction with the sulfonic groups of the CEMs, resulting in its release into the KCl compartment thereafter. Nonetheless, assuming that an interaction with another constituent could explain the presence of benzaldehyde in that case, this interaction could have been broken once this compound was finally in the KCl solution, as its detection was still allowed. Indeed, as mentioned previously in this study, while volatile compounds interact with other constituents, it hinders their detection [148]. Moreover, the results could show that this potential

interaction occurred only at pH 4, as a similar trend was not found at pH 7. The charged compounds in that case could be histidine, present mainly in its free form in the HMH [7] as, at pH 4, its side-chain was totally protonated ($pK_a \sim 6.0$), allowing its migration to the cathode through CEMs, while at pH 7 this latter was in its non-charged form. Interestingly, the presence of (Z)-6-octen-2-one, (E,E)-2,4-heptadienal and (E,Z)-2,6-nonadienal, whose abundance was lower in the hydrolysate at pH 4 treated with current at the final time, was not found in the corresponding KCl solution. Therefore, supposing that the hypothesis formulated before aiming that these compounds could have established interactions with membranes, this could indicate that none of these three compounds were released into the KCl compartment thereafter.

Finally, the performance of ED to decrease the abundance of the most potent odor-active compounds of the HMH was compared to that of a deaerator (Table 3-6). In this case, in addition to pH 4 and 7, the treatment was also conducted on the hydrolysate at pH 10. Compared to pH 4-hydrolysate at the initial time, the deaerator allowed the decrease in seven compounds ($p < 0.05$), namely 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, 2,3-pentanedione, pentanal, hexanal, 2-nonanone and (E,Z)-2,6-nonadienal. A similar trend was observed for pH 7-hydrolysate, for which the deaerator allowed a drop in the abundance of the seven following compounds ($p < 0.05$): 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, 1-methyl-1H-tetrazole, pentanal, hexanal, (Z)-6-octen-2-one and 2-nonanone. It is of interest to note that, in this case, the deaerator conducted the total loss of 1-methyl-1H-tetrazole, pentanal and (Z)-6-octen-2-one. That could suggest that the ability of such device to remove volatile compounds was better at pH 7 than at pH 4. As it was mentioned previously, the hypothesis that looked more plausible to explain the difference in volatile compound content between the initial hydrolysate at different pH values was the following: while pH increased, higher interactions between the volatiles and other constituents occurred. This could be in line with the results of the deaerator for the hydrolysate at pH 4 and pH 7. Indeed, it seemed that this device could break weak interactions occurring between volatile compounds and other compounds present in the hydrolysate, resulting in a better decrease rate at pH 7 than at pH 4. Nevertheless, the deaerator did not lead to a decrease in the volatile content while the hydrolysate was treated at pH 10. This could indicate that, at pH 10, the chosen hypothesis was not enough to totally explain the mechanisms involved. It could be supposed that, at pH 10, a certain proportion of volatile compounds could take part in strong interactions, such as covalent bonds, but at the same time, some of them could have been lost due to their promoted passage in the headspace of the hydrolysate solution as well, or simply altered, hindering their detection.

Table 3-6. Abundance of the most-potent odor active compounds of HMH ($\times 10^7$ Arbitrary Unit (A.U)) at the initial time and after the different treatments (mean \pm standard deviation)

	pH 4				pH 7				pH 10	
	Initial time	Final time (ED + current)	Final time (ED no current)	Final time deaerator	Initial time	Final time (ED + current)	Final time (ED no current)	Final time deaerator	Initial time	Final time deaerator
3-Methylbutanal	10.3 \pm 2.14 ^a	7.61 \pm 0.52 ^{ab}	7.67 \pm 1.00 ^{ab}	3.36 \pm 0.15 ^{cd}	6.47 \pm 1.61 ^b	5.53 \pm 0.40 ^{bc}	4.89 \pm 0.50 ^{bc}	1.26 \pm 0.05 ^d	4.88 \pm 0.12 ^{bc}	5.08 \pm 0.80 ^{bc}
2-Methylbutanal	4.15 \pm 2.06 ^a	3.87 \pm 0.46 ^a	3.32 \pm 0.69 ^{ab}	1.00 \pm 0.05 ^{bc}	3.67 \pm 1.03 ^a	2.66 \pm 0.54 ^{abc}	2.42 \pm 0.55 ^{abc}	0.831 \pm 0.094 ^c	2.45 \pm 0.14 ^{abc}	2.13 \pm 0.61 ^{abc}
1-Methyl-1H-tetrazole	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	3.80 \pm 0.92 ^a	3.94 \pm 0.55 ^a	2.95 \pm 0.73 ^a	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b
2,3-Pentanedione	8.90 \pm 1.66 ^a	7.03 \pm 0.63 ^{ab}	7.13 \pm 0.79 ^{ab}	5.02 \pm 0.72 ^{bc}	3.05 \pm 0.94 ^{cd}	2.94 \pm 0.22 ^{cd}	2.53 \pm 0.22 ^d	1.60 \pm 0.19 ^{de}	0.356 \pm 0.072 ^e	0.237 \pm 0.018 ^e
Pentanal	3.76 \pm 0.10 ^a	3.35 \pm 0.28 ^{ab}	3.64 \pm 0.23 ^a	1.31 \pm 0.02 ^{cd}	2.79 \pm 1.75 ^{abc}	3.37 \pm 0.40 ^{ab}	2.77 \pm 0.40 ^{abc}	0.00 \pm 0.00 ^d	1.67 \pm 0.11 ^{bed}	1.18 \pm 0.14 ^{cd}
Hexanal	6.94 \pm 1.54 ^a	4.63 \pm 1.88 ^{abc}	5.85 \pm 0.90 ^{ab}	3.66 \pm 0.08 ^{bc}	5.30 \pm 1.34 ^{ab}	4.69 \pm 0.27 ^{abc}	3.78 \pm 0.66 ^{bc}	2.47 \pm 0.15 ^c	2.14 \pm 0.27 ^c	2.18 \pm 0.55 ^c
(Z)-4-heptenal	4.66 \pm 2.59 ^a	4.40 \pm 0.32 ^a	4.75 \pm 0.94 ^a	4.11 \pm 0.26 ^{ab}	3.19 \pm 1.25 ^{abc}	2.37 \pm 0.23 ^{abc}	2.20 \pm 0.13 ^{abc}	1.48 \pm 0.19 ^{bc}	1.13 \pm 0.05 ^{bc}	0.888 \pm 0.166 ^{bc}
Heptanal	2.21 \pm 0.97 ^{ab}	1.81 \pm 0.11 ^{abc}	2.29 \pm 0.57 ^a	1.42 \pm 0.18 ^{abcd}	1.63 \pm 0.80 ^{abcd}	1.16 \pm 0.16 ^{abcd}	1.10 \pm 0.36 ^{abcd}	0.909 \pm 0.041 ^{bcd}	0.582 \pm 0.107 ^{cd}	0.358 \pm 0.112 ^d
Methional	0.33 \pm 0.19 ^a	0.267 \pm 0.064 ^{ab}	0.277 \pm 0.056 ^{ab}	0.215 \pm 0.042 ^{abc}	0.084 \pm 0.055 ^{bcd}	0.060 \pm 0.015 ^{cd}	0.046 \pm 0.027 ^{cd}	0.053 \pm 0.005 ^{cd}	0.013 \pm 0.004 ^{cd}	0.00 \pm 0.00 ^d
Benzaldehyde	5.34 \pm 2.48 ^a	5.67 \pm 1.93 ^a	4.80 \pm 1.74 ^a	6.46 \pm 0.56 ^a	5.19 \pm 1.25 ^a	5.10 \pm 0.81 ^a	4.12 \pm 0.96 ^a	2.72 \pm 0.28 ^a	3.49 \pm 0.73 ^a	3.36 \pm 0.31 ^a
(Z)-6-octen-2-one	1.07 \pm 0.44 ^a	0.414 \pm 0.273 ^{bc}	0.720 \pm 0.150 ^{ab}	0.465 \pm 0.115 ^{abc}	0.684 \pm 0.277 ^{ab}	0.591 \pm 0.299 ^{abc}	0.683 \pm 0.093 ^{ab}	0.00 \pm 0.00 ^c	0.891 \pm 0.093 ^{ab}	0.275 \pm 0.080 ^{bc}
(E,E)-2,4-Heptadienal	9.84 \pm 1.88 ^a	6.11 \pm 0.79 ^b	7.15 \pm 2.01 ^{ab}	9.05 \pm 0.62 ^a	0.879 \pm 0.326 ^c	0.770 \pm 0.225 ^c	0.596 \pm 0.247 ^c	1.31 \pm 0.12 ^c	0.306 \pm 0.097 ^c	0.225 \pm 0.079 ^c
Octanal	2.73 \pm 0.93 ^a	1.67 \pm 0.17 ^{abc}	1.64 \pm 0.67 ^{abc}	1.67 \pm 0.08 ^{abc}	1.88 \pm 0.71 ^{ab}	1.14 \pm 0.16 ^{bcd}	1.25 \pm 0.41 ^{bcd}	1.04 \pm 0.09 ^{bed}	0.428 \pm 0.016 ^{cd}	0.294 \pm 0.033 ^d
2-Nonanone	1.38 \pm 0.47 ^a	1.04 \pm 0.29 ^{ab}	1.14 \pm 0.30 ^{ab}	0.578 \pm 0.015 ^{bc}	1.41 \pm 0.56 ^a	0.694 \pm 0.140 ^{abc}	0.757 \pm 0.158 ^{abc}	0.236 \pm 0.041 ^c	0.569 \pm 0.062 ^{bc}	0.149 \pm 0.037 ^c
(E,Z)-2,6-Nonadienal	3.72 \pm 0.97 ^a	2.24 \pm 0.13 ^b	2.54 \pm 0.78 ^{ab}	1.36 \pm 0.17 ^{bc}	0.699 \pm 0.294 ^{cd}	0.580 \pm 0.073 ^{cd}	0.523 \pm 0.044 ^{cd}	0.461 \pm 0.044 ^{cd}	0.030 \pm 0.006 ^d	0.030 \pm 0.009 ^d

Values within the same row with different letters (a-d) are significantly different $p < 0.05$ (Tukey test)

Table 3-7. Abundance of the most-potent odor active compounds of HMH recovered in the KCl solution ($\times 10^7$ A.U) after the different ED treatments (mean \pm standard deviation)

	pH 4			pH 7	
	Initial time	Final time (ED + current)	Final time (ED no current)	Final time (ED + current)	Final time (ED no current)
3-Methylbutanal	0.00 \pm 0.00 ^a	0.027 \pm 0.143 ^a	0.133 \pm 0.030 ^a	0.960 \pm 1.318 ^a	0.097 \pm 0.151 ^a
Hexanal	0.00 \pm 0.00 ^b	2.19 \pm 0.47 ^a	1.71 \pm 0.70 ^a	2.33 \pm 0.17 ^a	1.86 \pm 0.12 ^a
Heptanal	0.00 \pm 0.00 ^a	0.156 \pm 0.188 ^a	0.025 \pm 0.082 ^a	0.026 \pm 0.091 ^a	0.095 \pm 0.138 ^a
Benzaldehyde	0.00 \pm 0.00 ^c	4.54 \pm 0.46 ^a	0.731 \pm 0.019 ^b	0.595 \pm 0.090 ^b	0.684 \pm 0.042 ^b
Octanal	0.00 \pm 0.00 ^b	0.202 \pm 0.089 ^{ab}	0.058 \pm 0.055 ^{ab}	0.214 \pm 0.143 ^{ab}	0.333 \pm 0.182 ^a
2-Nonanone	0.00 \pm 0.00 ^c	0.026 \pm 0.00 ^a	0.017 \pm 0.003 ^{ab}	0.003 \pm 0.012 ^{bc}	0.003 \pm 0.005 ^{bc}

Values within the same row with different letters (a-c) are significantly different, $p < 0.05$ (Tukey test)

3.3.2.2.1.2. TMAO, TMA and DMA

The TMAO, TMA and DMA contents of HMH are shown in Table 3-8. Firstly, concerning the hydrolysate at the initial time for the three tested pH values, their concentration in TMAO, TMA and DMA was similar ($p > 0.05$). The only difference observed was related to the content of TMAO of the hydrolysate at pH 10, which was 20 times lower ($p < 0.05$) than those of the hydrolysate at pH 4 and 7 at the initial time. In this context, it is worth to mention that the procedures used for the analysis of TMAO, TMA and DMA recommend to alkalize samples of interest, to allow a better detection of these molecules based on their higher release into the sample headspace [105]. Therefore, the huge decrease in TMAO content observed in the hydrolysate at pH 10 could be related to a loss following their release into the headspace of the hydrolysate solution due to its high volatility.

Then, concerning the content in TMAO, TMA and DMA after the four ED treatments, no difference was observed between the hydrolysate at initial and final times. ED treatments were especially designed to assess whether TMA and DMA, two positively charged compounds at pH 4 and 7, were able to migrate. However, the results indicated that no migration happened while experiments were conducted with current. As suggested by the ED parameter analyses, some water dissociation took place during the treatments conducted at pH 4 and 7 with current. Therefore, it could be hypothesized that TMA and DMA had been in competition with the generated H^+ to migrate into the CEMs, and that H^+ could have prevailed over TMA and DMA. Another explanation could be that fouling occurring on CEMs, as suggested by the membrane conductivity analysis, hindering the migration of TMA and DMA, thus explaining such results. Chindapan *et al.* (2011) experienced, in their study, a decrease in TMA, and explained this result by its loss occurring during ED due to its high volatility [15]. However, the results obtained in the present study may indicate that TMA could not be lost as easily, since ED treatments carried out without current did not evidence any change in the content of this compound. Moreover, the fact that no change in the concentration of TMAO was observed between the hydrolysate at the initial and final times treated with current was more expected.

Indeed, this molecule is a zwitterion, and the absence of global charge makes it less likely to migrate during an ED process.

The contents in TMAO, TMA and DMA of KCl recovery solution were analyzed (Table 3-9). The results show that the initial solution was free of these compounds, while the KCl solution at the final time of all the tested conditions only evidenced the presence of TMAO. The presence of TMAO in the recovery solution of treatments conducted with current was not expected, as the global charge of this compound was neutral. However, the fact that TMAO was present in the recovery solution of treatments carried out without current as well could suggest that another mechanism than electromigration could be involved. In addition, the concentration of TMAO in the different KCl recovery solutions was surprisingly as important as those of the corresponding hydrolysate at the initial time, and since the concentration of this compound in the hydrolysate did not evolve during the different ED treatments, this could suggest that new TMAO was generated over the time. The most logical explanation at the first glance could have been that some TMA evidenced oxidation, resulting in the formation of much more TMAO. However, this was not possible in the case of this study, as the initial hydrolysate, independently of its pH, had too low a content of TMA. This means that more complex mechanisms occurred. TMAO is traditionally produced from nitrogenous compounds, such as choline, betaine or carnitine, through metabolism pathways involving enzymes and gut microbiota [228]. Interestingly, HMH contains phospholipids whose choline can be a constituent and carnitine as well (Table 1-1). Even if metabolism pathways could not be involved in that case, it could be supposed that some TMAO was generated from the choline of phospholipids and carnitine through other reactions, such as oxidation. Nevertheless, this could only explain the occurrence of much more TMAO compared to the initial time, and not its recovery in the different KCl solutions. Another hypothesis could be that reactions between constituents of HMH, such as the choline of phospholipids or carnitine, as mentioned before, and those of CEMs could have taken place. This latter hypothesis seems to be even more plausible, as the analysis of ED parameters, and more specifically those regarding membrane conductivity, revealed that some interactions happened between hydrolysate constituents and membranes. However, at this stage, it is not possible to effectively favor one hypothesis rather than another one. A last point that is worth to mention that is that the absence of TMA and DMA in the KCl recovery solutions of treatments conducted with current was effectively representative of their non-migration.

Finally, the comparison of the performance of ED with those of a deaerator was assessed. The results are presented in Table 3-8. They indicate that the deaerator was only effective in decreasing the concentration of TMAO ($p < 0.05$) of the hydrolysate at pH 4 and 7. Regarding the hydrolysate at pH 10, this device had no effect on its composition. These results were consistent with those obtained for the most potent odor-active compounds, as discussed before. However, in that case, the fact that no impact regarding the TMAO content of the hydrolysate was observed gave credit to its

loss following its release into the headspace of the hydrolysate sample, promoted by alkaline conditions and occurring before the deaerator treatment, as mentioned previously.

Table 3-8. TMA, DMA and TMAO content of HMH at the initial time and after the different treatments (mean ± standard deviation)

	pH 4				pH 7				pH 10	
	Initial time	Final time (ED + current)	Final time (ED no current)	Final time deaerator	Initial time	Final time (ED + current)	Final time (ED no current)	Final time deaerator	Initial time	Final time deaerator
TMA (ppm)	3.55 ± 0.60 ^{abc}	3.08 ± 0.99 ^{abcd}	2.39 ± 2.05 ^{cd}	3.67 ± 0.37 ^{abc}	4.88 ± 0.27 ^{abc}	5.54 ± 0.59 ^a	4.95 ± 1.01 ^{ab}	2.50 ± 0.61 ^{bcd}	2.63 ± 0.20 ^{bcd}	0.72 ± 0.04 ^d
DMA (ppm)	5.31 ± 0.33 ^a	4.58 ± 2.04 ^a	4.12 ± 3.57 ^a	5.63 ± 1.05 ^a	2.54 ± 0.25 ^a	2.76 ± 0.50 ^a	2.51 ± 0.19 ^a	3.02 ± 0.31 ^a	4.26 ± 0.11 ^a	3.78 ± 0.09 ^a
TMAO (ppm)	942.36 ± 135.9 ^a	957.00 ± 153.79 ^a	1019.29 ± 155.12 ^a	155.63 ± 46.51 ^b	1023.67 ± 63.10 ^a	1004.00 ± 31.24 ^a	948.83 ± 75.03 ^a	121.91 ± 44.55 ^b	52.87 ± 15.03 ^b	101.37 ± 26.05 ^b

Values within the same row with different letters (a-d) are significantly different $p < 0.05$ (Tukey test).

Table 3-9. TMA, DMA and TMAO content of KCl recovery solution at initial time and after the different ED treatments (mean ± standard deviation)

	pH 4			pH 7	
	Initial time	Final time (ED + current)	Final time (ED no current)	Final time (ED + current)	Final time (ED no current)
TMA (ppm)	<0.02 ^a	<0.02 ^a	<0.02 ^a	<0.02 ^a	<0.02 ^a
DMA (ppm)	<1.00 ^a	<1.00 ^a	<1.00 ^a	<1.00 ^a	<1.00 ^a
TMAO (ppm)	<2.50 ^b	1083.64 ± 158.89 ^a	967.67 ± 127.79 ^a	1026.73 ± 143.80 ^a	1013.88 ± 142.96 ^a

Values within the same row with different letters (a-b) are significantly different $p < 0.05$ (Tukey test)

3.4. Conclusion

GC-MS analysis allowed the identification of a total of 86 volatile compounds in the HMH. Among these 86, the following 15 were determined to be the most potent odor-active compounds of this hydrolysate by GC-O, combined with the detection frequency method: 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, 1-methyl-1H-tetrazole, 2,3-pentanedione, pentanal, hexanal, (Z)-4-heptenal, heptanal, methional, benzaldehyde, (Z)-6-octen-2-one, (E,E)-2,4-heptadienal, octanal, 2-nonanone and (E,Z)-2,6-nonadienal. In addition, the HS-GC-NPD analysis revealed the presence of TMAO, TMA and DMA in the HMH. Furthermore, the performance of ED as a deodorization method was compared to that of a deaerator device. The results showed that pH had a huge impact on the volatile compound contents of the hydrolysate at the initial time. In fact, the abundance of the targeted molecules was lower at pH 10 than at pH 4, and intermediate at pH 7. While the pH increased from pH 4 to 7, volatile compounds were more involved in interactions with amino-acid-containing materials, explaining their lower availability and thus their lower abundance. However, at pH 10, more than one mechanism could be involved. Indeed, part of the targeted odor-active compounds should have been lost due to their volatility, while another part participated in irreversible bonds or was altered, hampering their detection. Regarding TMAO specifically, its lower content in the hydrolysate at pH 10 could be related to its loss resulting from a greater release into the headspace solution. On the other hand, ED did not affect the volatile compound contents of HMH. Concerning ED treatments conducted with current, no migration of volatile compounds, and more precisely no migration of TMA and DMA, occurred. Two phenomena were considered to be the main possible limiting process conditions regarding the removal of the targeted compounds. The first was the occurrence of fouling on IEM due to both electrostatic and hydrophobic interactions between IEM and HMH constituents, including volatile compounds. The second was the occurrence of water dissociation on the IEM interfaces due to the reaching of LCD, as well as the presence of water dissociation catalyzers involved in both IEM and HMH constituents. Moreover, the fact that ED treatments without current did not impact the volatile compound contents implied that no loss of these molecules due to their volatile nature happened during the circulation of the hydrolysate solution in an ED system. Interestingly, independently of the pH and current conditions of the ED treatments, it appeared that new TMAO was generated over the time. Two hypotheses were considered. The first would be that TMAO was generated directly in the hydrolysate solution from its precursors, while the second could involve its precursors, as well as the constituents of CEMs. On the contrary to ED, treatments conducted by deaerator significantly decreased the abundance of the targeted compounds at pH 4 and 7, but had no effect at pH 10. Therefore, the conditions leading to the best removal levels of the targeted volatile

compounds were the deaerator treatment performed on the hydrolysate at pH 7, and the alkalization of this latter until pH 10. Despite the fact that the relevance of ED to be used as a deodorization method of HMH was not proven at that stage, it appeared that the establishment of strategies to avoid both fouling and water dissociation phenomena could lead to a better process efficiency. However, this supposes to deepen the knowledge regarding, especially, the fouling resulting from interactions between IEM and HMH constituents, with particular interest in those involving volatile compounds, by performing Attenuated Total Reflection–Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR), as well as identifying the mechanisms leading to TMAO formation during ED. This is currently under investigation. Finally, the use of electromembrane processes, other than conventional electro dialysis, could be another promising solution that is worth further investigation. Therefore, electromembrane processes have a chance to become an effective deodorization method in the future.

3.5. Acknowledgements

The NSERC Industrial Research Chair on ElectroMembrane processes aimed at the ecoefficiency improvement of biofood production lines is acknowledged. The authors are grateful to Ocean NutraSciences for providing the herring milt hydrolysate powder. The authors thank Diane GAGNON and Jacinthe THIBODEAU, professional researchers at Université Laval, for their involvement in this project.

Atteinte des objectifs et avancement des connaissances

Au travers de cette première étude, il a pu être démontré, d'une part, que 15 composés contribuaient majoritairement à l'odeur de l'hydrolysate de laitance de hareng et, la présence des molécules de DMA, TMA et de TMAO a été confirmée. D'autre part, il a pu être démontré que l'ED n'était, à ce stade, pas performante à des fins de désodorisation de l'hydrolysate de laitance de hareng et ce, indépendamment des conditions de courant et de pH testées. Les phénomènes de colmatage des membranes échangeuses d'ions (IEM) ainsi que de dissociation des molécules d'eau ont été identifiés comme étant les conditions limites de ce procédé. En revanche, la faisabilité de désodoriser l'hydrolysate de laitance de hareng en ayant recours au procédé de désaération a été démontrée. Qui plus est, cette première étude a également laissé entrevoir l'impact que pouvait exercer le pH sur le contenu odorant ciblé. Toutefois, afin de développer une méthode de désodorisation optimale, le rôle du pH sur le contenu odorant se doit d'être davantage précisé. Ainsi, cette première étude a permis de répondre au premier objectif de recherche destiné à identifier et à caractériser les molécules odorantes présentes dans l'hydrolysate de laitance de hareng et dans les fractions après traitements et, a notamment permis d'apporter des éléments de réponse relatifs aux objectifs 2 et 3. L'objectif 2 s'intéresse à l'étude de l'impact du type de pré-traitement (brassage sous inertie, pH, nature du sel) sur le contenu odorant de l'hydrolysate testé tandis que l'objectif 3 vise à étudier l'impact de la technologie de désodorisation (électrodialyse, désaérateur) et de ses paramètres (courant électrique, pH, nature du sel) sur le contenu odorant de l'hydrolysate testé.

Ces résultats ont ainsi contribué à l'avancement des connaissances scientifiques notamment en caractérisant pour la première fois le contenu odorant d'un hydrolysate de laitance de hareng. De plus, pour la première fois également, les procédés d'ED et de désaération ont été envisagés à des fins de désodorisation. D'une part, en ce qui a trait à l'ED plus précisément, même si à ce stade, ce procédé ne s'est pas démontré performant afin de réduire le contenu odorant de l'hydrolysate de laitance de hareng, les résultats obtenus dans le cadre de cette première étude ont permis de mettre en lumière des phénomènes d'intérêt. En effet, ils ont suggéré que les composés volatils étaient capables d'entreprendre des interactions avec les constituants des IEMs et, que ces constituants pouvaient potentiellement être capables de catalyser la formation de nouvelles molécules de TMAO. D'autre part, les résultats obtenus ont laissé entrevoir la faisabilité d'avoir recours au procédé de désaération qui, est conventionnellement utilisé en industrie afin d'éliminer les gaz dissous des matrices alimentaires, à des fins de désodorisation.

Chapitre 4 : Développement d'une nouvelle méthode de désodorisation d'un hydrolysate de laitance de hareng : impacts du pH, d'un brassage sous inertie et d'un traitement de désaération sur le contenu odorant

L'article présenté dans ce chapitre est intitulé :

« **Development of a New Deodorization Method of Herring Milt Hydrolysate: Impacts of pH, Stirring with Nitrogen and Deaerator Treatment on the Odorous Content** ». Cet article a été publié dans le journal *Foods*, 2021, Vol. 10 (4), 884.

Les auteurs de cet article sont : Sarah Todeschini, Véronique Perreault, Charles Goulet, Mélanie Bouchard, Pascal Dubé, Yvan Boutin et Laurent Bazinet.

Transition Contextuelle

Dans le chapitre précédent, il a été démontré qu'un traitement de désaération opéré à pH 7 ainsi qu'une simple basification étaient des avenues d'intérêt afin de réduire le contenu odorant de l'hydrolysate de laitance de hareng. Ces traitements apparaissant comme facilement transférables à l'industriel partenaire, il a donc été choisi de prêter davantage intérêt à ces derniers. Toutefois, de tels résultats ont été obtenus sur des solutions d'hydrolysate ayant subi une cascade d'étapes. En effet, en premier lieu, le pH des solutions d'hydrolysate a été ajusté soit à 7 soit à 10. Puis, les solutions d'hydrolysate ont été agitées toute une nuit sous inertie. Finalement, un traitement de désaération a été mené après le brassage sous inertie d'une nuit. Ainsi, afin de développer une méthode de désodorisation optimale, il demeure indispensable de préciser le rôle respectif de chacune de ces étapes incluant les pré-traitements conduits (brassage sous inertie, pH, nature du sel) et le traitement de désodorisation par désaération sur le contenu odorant de l'hydrolysate testé.

Dans un tel contexte, les objectifs de la présente étude étaient (1) d'approfondir les connaissances relatives à l'impact du pH, d'un brassage sous inertie et d'un traitement de désaération sur les molécules de TMAO, TMA et de DMA ainsi que sur les principaux contributeurs à l'odeur de l'hydrolysate de laitance de hareng, (2) d'identifier les conditions optimales permettant d'atteindre le meilleur taux d'élimination de ces composés odorants et, (3) d'identifier les mécanismes mis en jeu dans la libération ou la rétention des molécules à l'étude.

Résumé

Cette étude visait à approfondir les connaissances relatives à l'impact du pH (pH 7 vs. pH 10), d'un brassage sous inertie d'une nuit (+N vs. -N) et d'un traitement de désaération (+D vs. -D) sur le contenu odorant de l'hydrolysate de laitance de hareng (HMH) qui, incluait la diméthylamine (DMA), la triméthylamine (TMA), l'oxyde de triméthylamine (TMAO) et les composés considérés comme principaux contributeurs à son odeur. Les résultats ont démontré que le pH avait un impact majeur sur les composés ciblés contrairement au brassage sous inertie. À pH 10, le désaérateur a été performant pour réduire le contenu en TMA et DMA tandis que le traitement à pH 7 a été performant pour réduire le contenu des principaux contributeurs à l'odeur. Les analyses sensorielles ont confirmé que les conditions pH 10 -N +D et pH 7 -N +D + pH 10 étaient les plus optimales.

Abstract

Herring milt hydrolysate (HMH) presents the disadvantage of being associated with an unpleasant smell limiting its use. Thus, to develop a new effective and easy-to-use deodorization method, this research aimed to deepen the knowledge regarding the impacts of pH (pH 7 vs. pH 10), overnight stirring with nitrogen (+N vs. -N) and deaerator treatment (+D vs. -D) on the odorous content of HMH. This latter included dimethylamine (DMA), trimethylamine (TMA), trimethylamine oxide (TMAO) and the most potent odor-active compounds of HMH. Results showed that pH had a huge impact on the targeted compounds resulting in higher detected concentrations of DMA, TMA and TMAO at pH 10 than at pH 7 ($p < 0.05$) while the opposite trend was observed for the most potent odor-active compounds of HMH ($p < 0.05$). Moreover, independently of the pH condition, the overnight stirring with or without nitrogen had no impact ($p > 0.05$). Finally, the deaerator treatment was more effective to remove TMA and DMA at pH 10 than at pH 7 ($p < 0.05$) while the opposite trend was observed for the most potent odor-active compounds ($p < 0.05$). Sensory analysis confirmed that the application of pH 10 -N +D and pH 7 -N +D + alkalization pH 10 conditions led to the least odorous products ($p < 0.05$).

Keywords: herring milt hydrolysate; deodorization; deaerator; off-flavors; trimethylamine; dimethylamine; trimethylamine oxide; sensory analysis

4.1. Introduction

Due to environmental and economic concerns, more and more attention has been paid to the valorization of by-products originating from fish processing plant. These by-products are generally composed of skin, head, bones, viscera, trimmings, milt and could represent from 50 to 70% of the fish fresh weight with regards to the involved species [4]. More specifically regarding fish milt, this by-product was treated as a waste for a long time resulting in its underutilization [10]. Nevertheless, its content in added-value compounds such as proteins, polyunsaturated fatty acids, nucleic acids and vitamins makes it, nowadays, an interesting renewable bioresource that is worth to better consider [27,229]. Furthermore, some studies revealed that the bioactive potential of fish milt could be enhanced following a hydrolysis step [6,230]. In the case of herring milt hydrolysate (HMH), antioxidant and anti-inflammatory activities were reported *in vitro* [7,8] while the ability of this latter to modulate diabetes pathology was demonstrated at both *in vitro* and *in vivo* levels [7,9–11]. However, HMH, like other fish hydrolysates and fish-related products, has the main disadvantage to be associated with unpleasant odors and this limits its use in spite of the aforementioned promising aspects [12,231]. Therefore, there is a real need to address this major issue.

Generally, off-flavors in marine products and related products including hydrolysates are due to the contribution of various compounds being all volatile, low-molecular-weight and hydrophobic [12]. In marine materials, trimethylamine (TMA) and dimethylamine (DMA), two amines originating from the degradation of trimethylamine oxide (TMAO), are the most well-known sources of unpleasant odors [13,14]. In addition to these nitrogenous-compounds, other compounds belonging to various chemical groups such as aldehydes, ketones or sulfur-containing compounds have been reported to be an important cause of off-flavors as well [12]. In the case of HMH more particularly, the presence of TMA, DMA and TMAO has recently been evidenced in addition to the major contribution to its odor of fifteen compounds belonging mainly to the aldehyde chemical group [231]. Interestingly, among these fifteen compounds, most of them have already been identified as being important contributors to the odor of other fish products except for 1-methyl-1H-tetrazole and (Z)-6-octen-2-one that would be more characteristic of the HMH smell [231].

To remove these compounds responsible for off-flavors, several strategies have already been designed so far. Based on their mechanism of action, they can be classified into three categories: biological, chemical and physical strategies. Despite the fact that these strategies have already proven their relevance at different degrees, all seem to be associated with some disadvantages. Indeed, biological strategies implying the use of microorganisms have a limited action spectrum and their

mechanisms remain unclear [12,94]. Chemical strategies include ozonation and the use of antioxidants. As ozonation is based on the use of a powerful oxidizing agent, ozone, side reactions risking to damage the product of interest may arise [183] whereas antioxidants are more used to prevent the formation of off-flavors rather than to remove them [12]. Physical strategies refer to extraction and adsorption processes. As extraction processes generally involve high temperatures, thermolabile compounds can be altered [118] whereas the efficiency of adsorption processes is limited [12]. Therefore, there is a real need to develop an effective deodorization method. Recently, Todeschini *et al.* (2020) showed that a deaerator treatment conducted on HMH at neutral pH preliminary stirred overnight with nitrogen as well as a simple alkalization of this latter could decrease its most potent odor-active compound contents as well as those of TMAO [231]. Nevertheless, this study neither analyzed the respective role of pH, overnight stirring with nitrogen and deaerator treatment nor the effect of a combination of these three factors with regards to the observed decrease in the targeted odorous compounds. Since the two treatments introduced by Todeschini *et al.* (2020) present the advantages to be easy to operate without being time consuming and demanding in terms of materials compared to the deodorization strategies commonly used, they are worth to be further investigated.

In this context, the objectives of the present research were 1) to deepen the knowledge regarding the impacts of pH, overnight stirring with nitrogen, deaerator treatment on TMAO, TMA and DMA as well as on the main contributors to the odor of HMH and 2) to identify the optimal conditions leading to the best removal rate of these odorous compounds.

4.2. Materials and Methods

4.2.1. Materials

4.2.1.1. Chemicals

Methylene chloride and nonyl acetate were purchased from Fisher (Montréal, QC, Canada). Hydrochloric acid (HCl) and sodium hydroxide (NaOH) were obtained from VWR (Montréal, QC, Canada). TMAO, TMA and DMA standards were purchased from Sigma-Aldrich (St-Louis, MO, USA). Helium and nitrogen were from Praxair (Mississauga, ON, Canada). Oxygerm, Blizzard and Extrem solutions were obtained from Sani Marc (Victoriaville, QC, Canada).

4.2.1.2. Herring Milt Hydrolysate (HMH)

HMH powder was supplied by Ocean NutraSciences (Matane, QC, Canada) and was stored under vacuum and protected from light at -30°C before its use. The chemical composition of HMH dry powder was the following: $79.27 \pm 0.17\%$ of total nitrogen, $48.28 \pm 0.44\%$ of peptides, $27.30 \pm 3.57\%$ of nucleic acids, $18.48 \pm 1.27\%$ of lipids and $11.55 \pm 0.20\%$ of ashes [7].

4.2.2. Methods

4.2.2.1. Protocol

Experiments were conducted on HMH solutions dissolved to 4% proteins (*w/v*) and whose initial pH of 7.3 was adjusted either to pH 7 with 6 M HCl or to pH 10 with 6 M NaOH. HMH solutions were then stirred overnight at 4°C, while protected from light by being recovered by aluminum foil, either with nitrogen or without depending on the tested conditions before being finally treated or not by a deaerator device model ERV2 (Koruma, Neuenburg, Germany) (Figure 4-1). Treatment by deaerator was conducted for 30 min under 100 Torr in a closed circuit in accordance with the procedure described by Todeschini *et al.* (2020) [231]. Before use, the deaerator was decontaminated with Oxygerm solution consisting in a mix of organic acids and powerful oxidizers. Following each assay, the deaerator underwent another cleaning step with Blizzard and Extrem solutions consisting, respectively, in a foaming chlorinated alkaline degreaser and a mix of caustic soda, sequestering and wetting agents. An additional alkalization step to pH 10 with 6 M NaOH was carried out on the HMH solution at pH 7 stirred overnight without nitrogen and treated by deaerator (Figure 4-1). This was done to assess if a final alkalization step could enhance the ability of the deaerator to decrease the volatile compound content of HMH solution treated at pH 7. Samples were collected just after dissolution of HMH powder, once pH was adjusted, and then at each step of the protocol. They were stored at -20°C protected from light before being studied in terms of volatile compound contents. All the tested conditions led to a total of eleven different treatments, summarized in Figure 4-1, performed in three replicates and in random order.

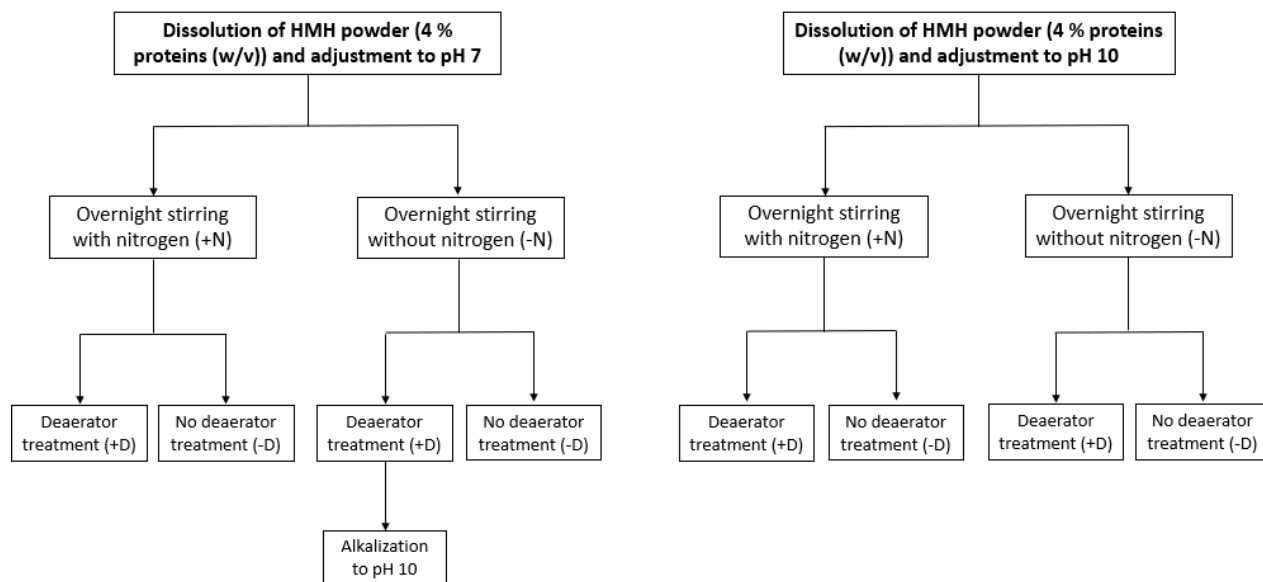


Figure 4-1. Summary of the eleven treatments performed on HMH

4.2.2.2. Analyses

4.2.2.2.1. Volatile Compound Analyses

4.2.2.2.1.1. DMA, TMA and TMAO Contents

To assess the DMA, TMA and TMAO contents, headspace (HS) gas chromatography (GC) with a nitrogen-phosphorus detector (NPD) was used. Samples were prepared as previously described by Todeschini *et al.* (2020) [231]. Summarily, 2 mL of standards or samples were transferred into vials of 20 mL and alkalinized to pH 10 with 0.1 M or 5 M NaOH solutions depending on their initial pH to avoid any dilution effect. Samples were then equilibrated at 90°C for 10 min in a 7697A headspace sampler (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). The combination of both alkalinization and heating aimed to maximize the recovery of DMA, TMA and TMAO molecules. After that, 1 mL of headspace loop was injected into a 7890B GC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) equipped with a NPD. The injection was done in split mode with a ratio of 1:5 and the injector temperature was at 250°C. The loop and transfer line were, respectively, at 110°C and 115°C. A CP-Volamine capillary column (30 m length x 0.32 mm id) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) was used to separate the volatile amines. Helium was the carrier gas and circulated at a constant flow rate of 3 mL/min. The oven temperature was set up from 50°C (temperature maintained for 4 min) to 200°C at 25°C/min. The detector temperature was at 300°C. Calibration curves made of known concentrations of DMA, TMA and TMAO standards (from 2.5 ppm to 10 ppm for DMA and TMA; from 25 ppm to 755 ppm for TMAO) were used to determine their concentration in the

different samples. Data were treated with Open Lab CDS software version A.03.02.023 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA).

4.2.2.2.1.2. Most Potent Odor-Active Compound Contents

A) Most Potent Odor-Active Compound Extraction

Volatile compounds were extracted as previously mentioned by Tremblay *et al.* (2020) [113]. Cotton balls were used to absorb 45 mL of liquid samples. Then, they were enclosed in glass tubes in which air circulated for 1h to allow the recovery of volatile compounds on a divinylbenzene column (HayeSep® Q 80/100, Bandera, TX, USA) at room temperature. Afterwards, volatile compounds were eluted with 150 µL of solvent consisting in dichloromethane and nonyl acetate used as an internal standard at a concentration of 3.71×10^{-5} M. Samples were stored at -80°C before their analysis.

B) Most Potent Odor-Active Compound Determination

A gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) system composed of a 7890B GC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) involving a 5977B mass selective detector (MSD) and a high efficiency source (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) was used. Extracts (1.8 µL) were analyzed similarly to Tremblay *et al.* (2020) [113]. They were injected into a DB-5MS Ultra Inert capillary column (30 m length x 250 µm id, 1 µm thickness) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) in splitless mode. Helium was the carrier gas and circulated at a constant flow rate of 1.3 mL/min. The oven temperature was set up from 35°C (temperature maintained for 1.46 min) to 47°C at 6°C/min and to 250°C (temperature maintained for 3 min) at 10°C/min. The MSD source and MSD quad were, respectively, at 230°C and 150°C. Mass spectra were analyzed at an ionization energy of 70 eV. MSD ran in scan mode over a m/z range between 30 and 250 atomic mass unit (a.m.u) with a scan rate of 6.1 scans/s. Volatile compounds were identified by comparing their mass spectra with those of the NIST 17.L mass spectral database (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA). Only the compounds considered as the most potent odor-active ones of HMH [231] were studied and the area under their peak was used to assess their abundance in the different samples. Data were treated with MassHunter Qualitative Analysis software version B.07.00 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA).

4.2.2.2.2. Sensory Analysis

Among all the tested conditions, five were subjected to a sensory analysis. These five conditions were selected based on HS-GC-NPD and GC-MS results and corresponded to the two conditions

bringing about the highest removal of the targeted compounds, to the two worst and to an intermediate one. This was done to assess if differences identified by analytical tools could be confirmed by human perception. Sensory analysis procedure was adapted from Chen *et al.* (2016) [12]. A panel of twenty judges, made of fifteen females and five males between 23 and 51 years old, joined the sensory analysis. Panel members were selected based on their motivation and availability without having followed a preliminary training session to be more representative of ordinary consumers. Samples were assessed at room temperature, right after leaving a 4°C cold chamber, in crucibles of 40 mL capacity containing 5 mL of HMH solution and covered by plastic Petri dishes to avoid any loss of volatile compounds. Samples were ascribed a three-digit code and were placed in random order. The sensory assessment consisted in ranking the five selected conditions according to their odor intensity from the least to the most odorous. To do this, panel members were asked to gently remove plastic Petri dishes to sniff the headspace above the samples by normal breaths and to replace the cover quickly. A score (S) was given for each assessed condition where S was obtained according to Equation (7) [12].

$$S = \sum R_i \quad (7)$$

R_i refers to the rank ascribed by each panel member for a given sample. Therefore, the condition leading to the lowest value of S was those considered as being the least odorous while those leading to the highest value of S was those considered as the most odorous.

4.2.2.2.3. Statistical Analyses

Statistical analyses were done using SAS software version 9.4 for windows (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA). Analyses of variance (ANOVA) were carried out on HS-GC-NPD and GC-MS data and Tukey test ($\alpha = 0.05$) was used for the comparison of the different treatments. Regarding sensory analysis results, the non-parametric Friedman test was first used to detect any difference among all the selected treatments and then, Wilcoxon test ($\alpha = 0.05$) was conducted to compare the treatments two by two to identify those being different from the other ones.

4.3. Results and Discussion

4.3.1. Volatile Compound Analyses

4.3.1.1. DMA, TMA and TMAO Contents

The content in DMA, TMA and TMAO of HMH solutions after dissolution and HMH solutions produced over the different tested conditions is shown in Table 4-1. First, regarding the HMH solutions after dissolution at pH 7 and 10, higher DMA, TMA and TMAO contents were detected for the solution at pH 10 than for those at pH 7 ($p < 0.05$). This was consistent with the ability of basic pH to increase the free contents of these molecules resulting in their better recovery [64,105]. Indeed, HMH, similarly to other complex matrices, involves a blend of various compounds including amino acids, peptides, nucleic acids and all of them can interact with DMA, TMA and TMAO. For this reason, to be detected, DMA, TMA and TMAO have to be present under a free form meaning that they should not be involved in interactions and basic conditions are well reported for their propensity to release DMA, TMA and TMAO from these potential interactions [64,105]. Therefore, the lower content in DMA, TMA and TMAO detected for the pH 7 solution after dissolution could be, in fact, related to their potential involvement in interactions with other constituents of HMH. Indeed, based on the pKa values of DMA and TMA, respectively equal to 10.70 and 9.80 [199], these two compounds were mainly present under their acid form at pH 7. This means that both DMA and TMA were positively charged at this pH value making them more likely to establish electrostatic interactions with other negatively charged constituents of HMH hampering, thus, their release and resulting in their lower detection at pH 7. These negatively charged constituents could be the C-term of peptides (pKa ~ 2.1) in addition to the side-chains of free or bound glutamic and aspartic acids (pKa ~ 4.0) [223]. Besides, HMH contains nucleic acids. Since these compounds are globally negatively charged, they could, as well, establish electrostatic interactions with both DMA and TMA. Regarding TMAO more specifically, this compound presents the specificity to carry a negative charge and a positive one at pH 7 making it likely, as well, to establish electrostatic interactions with other constituents of HMH. Similarly to what was mentioned for DMA and TMA, the positive charge of TMAO could interact with the negatively charged species of HMH such as the C-term of peptides (pKa ~ 2.1) or the side-chains of free or bound glutamic and aspartic acids (pKa ~ 4.0) at pH 7 [223] as well as nucleic acids. On the contrary, the negative charge of TMAO could interact with the positively charged species such as the N-Term of peptides (pKa ~ 9.8) or the side-chains of lysine (pKa ~ 10.5) and arginine (pKa ~ 12.5) in both their free or bound forms [223]. Interestingly, HMH involves a high content in arginine, mainly present under a free form, and this

would give credit to the latter explanation [7]. At pH 10, a certain part of these interactions would have been broken especially for TMA being neutral under this pH value, explaining thus the higher detected content. Besides, no difference was observed between the HMH solutions at pH 7 stirred overnight without nitrogen (pH 7 -N -D) or with nitrogen (pH 7 +N -D) and those after dissolution ($p > 0.05$). On the one hand, this suggests that a simple stirring, independently of the presence of nitrogen, was not sufficient enough to increase the release of the targeted compounds by breaking, in particular, the potential interactions taking place between them and the other constituents of HMH. It is noteworthy to mention that the fact that the stirring step, regardless of the use of nitrogen, did not bring about a better detection of the targeted compounds, in this study, was not in line with the stir bar sorptive extraction method that uses stir bars to improve the release of volatile compounds [232]. As temperature is a limiting factor with regards to this procedure [233], the fact that the overnight stirring of HMH solutions was conducted at 4°C and not at higher temperatures, to prevent the polyunsaturated fatty acids of HMH from degradation in addition to microbiological concerns, could explain this discrepancy. On the other hand, the fact that no difference was observed between HMH solution after dissolution and the pH 7 -N -D or pH 7 +N -D HMH ones might indicate as well that DMA, TMA and TMAO were distributed homogeneously in solution directly after dissolution. This would be corroborated by the general low standard deviation values with regards to their corresponding means (Table 4-1). Moreover, the fact that no significant difference was observed between the pH 7 -N -D and pH 7 +N -D hydrolysate solutions showed that at this pH value, nitrogen had no effect on the targeted compounds. This could be consistent with the fact that nitrogen flushing is, in general, used to prevent the degradation of food products by limiting, in particular the oxidation of lipids, and not to modify their current composition including those in volatile compounds [234]. Concerning the effect of the overnight stirring on HMH solutions at pH 10, no change was observed between the solutions stirred without (pH 10 -N -D) or with nitrogen (pH 10 +N -D) and those after dissolution ($p > 0.05$) except for the TMA content that was lower for the pH 10 +N -D condition ($p < 0.05$). Since the release of TMA was increased under basic conditions [64,105], a punctual loss of this compound, promoted by the presence of nitrogen, would have occurred during the overnight stirring explaining such a result. Interestingly, the pH effect previously observed between the HMH solutions at pH 7 and 10 after dissolution was still visible for DMA and TMA after the overnight stirring, regardless of the presence of nitrogen, but not anymore for TMAO. As the pH effect was less pronounced for TMAO than for DMA and TMA between the solutions at pH 7 and 10 after dissolution, this might explain the reason why this pH trend was not evidenced for TMAO afterwards. Therefore, based on the results obtained for the solutions at pH 7 and 10 just after dissolution and after the overnight stirring with or without nitrogen, it appeared that neither the stirring step nor the

presence of nitrogen impacted the content in DMA, TMA and TMAO. This means that in case of further treatment, this latter could be performed directly on a solution just after dissolution. This would save time as well as materials. Concerning the effect of a deaerator, no change was observed for the pH 7 -N +D and pH 7 +N +D hydrolysate solutions compared to those stirred in the same conditions but not treated by deaerator ($p > 0.05$). However, a decrease in the TMA content was noted for the pH 10 -N +D and pH 10 +N +D HMH solutions compared to those stirred in the same conditions but not treated by deaerator ($p < 0.05$). This represents a decrease in the TMA content of 80% in comparison with the HMH solution at pH 10 just after dissolution. This huge effect of the combination of both pH and deaerator treatment on the TMA content was confirmed by statistical analyses ($p < 0.05$). Besides, regarding the DMA content of the pH 10 -N +D and pH 10 +N +D HMH solutions, even if it was not perceived in terms of statistical differences ($p > 0.05$), a downward trend could be noted, while no change was evidenced for TMAO in these conditions ($p > 0.05$). Since deaerator is a device used to remove gas from a matrix, volatile compounds due to their volatile state, are removed at the same time. The fact that the deaerator was more effective to decrease the DMA and TMA contents at pH 10 than at pH 7 might be explained by its better ability to remove these compounds resulting from their higher release under alkaline conditions [64,105]. Surprisingly, the deaerator was more effective to remove TMA than DMA even though these two compounds have a similar structure and would have been expected to evidence the same behavior. Nevertheless, based on the pKa values of TMA and DMA, respectively equal to 9.80 and 10.70 [199], TMA was mainly present under its basic form while DMA was mainly present under its acid one at pH 10. This means that TMA was under a neutral form while DMA was under a positively charged one. Therefore, DMA could be still involved in electrostatic interactions with the negatively charged constituents of HMH hampering, thus, the deaerator to remove it as easily as TMA at pH 10. Therefore, performing the deaerator treatment at higher pH value, such as pH 11, would enhance the removal of DMA as this compound would not be charged anymore. Moreover, based on what was mentioned previously, the ineffectiveness of the deaerator treatment to remove both TMA and DMA at pH 7, would be linked to their propensity to electrostatically interact with other components of HMH. This explanation could be involved as well for TMAO at both pH values. Indeed, since TMAO carries a negative charge and a positive one at pH 7 and 10, this compound was able to electrostatically interact with other charged constituents of HMH decreasing, thus, the ability of deaerator to remove it. Another interesting point to note is that the DMA, TMA and TMAO contents detected for the pH 7 -N +D and pH 7 +N +D solutions, on the one hand, and for the pH 10 -N +D and pH 10 +N +D solutions, on the other hand, were similar for the same value of pH ($p > 0.05$). This means that there was no effect of the stirring conditions on the deaerator treatment and this was confirmed by statistical analyses ($p > 0.05$).

Finally, regarding the impact of a further alkalization step conducted on the pH 7 -N +D HMH solution, the detected content in DMA and TMA was higher than those in the pH 7 -N +D one ($p < 0.05$) while the detected content in TMAO was similar in both ($p > 0.05$). The increase in the detected TMA and DMA contents following the alkalization step was in line with what was observed so far regarding the ability of basic conditions to improve the release of these compounds [64,105]. Nonetheless, in a deodorization context, as the final objective is to reduce the content in odorous compounds, conducting an additional alkalization step appeared to be irrelevant as it brought about a higher content in free DMA and TMA. Thus, based on DMA, TMA and TMAO results, the treatments allowing the best removal rate of these compounds, were the pH 10 -N +D and pH 10 +N +D ones. Furthermore, these treatments appeared to be more effective in terms of TMA removal, more specifically, reaching a removal rate of 80%, in comparison with other deodorization strategies described in the literature. Indeed, Park *et al.* (2020) reported a decrease in the TMA content from 45 to 62% in spoiled fish by lactic acid bacteria [179] while Chen *et al.* (2016) observed no effect of a yeast extract on the TMA content of a clam hydrolysate [12]. Using adsorption strategies, a TMA removal rate of 73.3% was reached by Boraphech and Thiravetyan (2015) on activated carbon [235] whereas Chen *et al.* (2016) found the adsorption on activated carbon ineffective to reduce the TMA content of a clam hydrolysate [12]. Interestingly, Chung and Lee (2009) demonstrated slightly higher TMA removal rates using adsorption on zeolites with regards to the present study. Since they used a pure solution of TMA and not a complex matrix made of various compounds such as HMH, this may explain such results [190]. Therefore, comparisons with data obtained from the literature might indicate the high potential of the treatments developed in the present work to be used as a new avenue to deodorize complex matrices such as HMH. It is worth mentioning that the comparison between the present deodorization strategies with other ones in terms of DMA and TMAO removal efficiency was not possible since the literature mainly reported studies dealing with TMA removal.

Table 4-1. DMA, TMA and TMAO contents of HMM after dissolution and after the different treatments (mean ± standard deviation)

	pH 7 after dissolution	pH 7 -N -D	pH 7 -N +D	pH 7 +N -D	pH 7 +N +D	pH 7 -N +D + alkalization pH10	pH 10 after dissolution	pH 10 -N -D	pH 10 -N +D	pH 10 +N -D	pH 10 +N +D
DMA (ppm)	3.09 ± 0.45 ^c	3.18 ± 0.60 ^c	3.83 ± 0.19 ^{bc}	3.00 ± 0.17 ^c	3.79 ± 0.62 ^{bc}	5.87 ± 0.68 ^a	6.05 ± 0.61 ^a	6.09 ± 0.33 ^a	5.03 ± 0.63 ^{ab}	5.81 ± 0.48 ^a	4.93 ± 0.36 ^{ab}
TMA (ppm)	2.72 ± 0.21 ^c	2.76 ± 0.21 ^{bc}	2.96 ± 0.12 ^{bc}	2.56 ± 0.15 ^c	2.76 ± 0.39 ^{bc}	3.64 ± 0.26 ^a	3.65 ± 0.16 ^a	3.34 ± 0.05 ^{ab}	0.67 ± 0.16 ^d	2.47 ± 0.22 ^c	0.71 ± 0.04 ^d
TMAO (ppm)	250.67 ± 11.37 ^b	315.00 ± 21.17 ^{ab}	268.33 ± 41.28 ^{ab}	285.33 ± 18.50 ^{ab}	245.33 ± 34.99 ^b	297.00 ± 14.00 ^{ab}	340.67 ± 43.09 ^a	281.00 ± 25.71 ^{ab}	276.67 ± 18.72 ^{ab}	315.00 ± 30.61 ^{ab}	275.33 ± 37.07 ^{ab}

Values within the same row followed by different letters (a-d) are significantly different $p < 0.05$ (Tukey test)

4.3.1.2. Most Potent Odor-Active Compound Contents

The abundance of the most potent odor-active compounds of HMM solutions after dissolution and of HMM solutions produced over the different tested conditions is presented in Table 4-2. First, no significant difference was globally noticed between HMM just after dissolution at pH 7 and HMM stirred overnight with (pH 7 +N -D) or without nitrogen (pH 7 -N -D) ($p > 0.05$). Similarly to what was mentioned for DMA, TMA and TMAO, this means that a simple stirring, independently of the presence of nitrogen, was not sufficient enough to increase the release of the targeted compounds and that these compounds were distributed homogeneously in solution directly after dissolution as well. However, this was not totally confirmed for 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, pentanal and 1-methyl-1H-tetrazole. Indeed, the 3-methylbutanal, 2-methylbutanal and pentanal contents were lower in the solutions stirred overnight, regardless of the presence of nitrogen, while 1-methyl-1H-tetrazole was not even detected after the stirring step ($p < 0.05$). Based on what was mentioned before, this might indicate that either these compounds, unlike the other ones, would have been lost due to their volatile state during the stirring step or that, on the contrary, the stirring step allowed these compounds to better interact with the other constituents of HMM hampering their optimal detection afterwards. At that stage, it was not obvious to clearly choose one explanation rather than the other one. Moreover, the fact that no significant difference was noticed between the pH 7 -N -D and pH 7 +N -D solutions showed that at this pH value, nitrogen had no effect on the most potent odor-active compounds of HMM and this was consistent with what was observed for DMA, TMA and TMAO. Then, with regards to the impact of a deaerator treatment conducted on a HMM solution that was stirred overnight without nitrogen at pH 7 (pH 7 -N +D), no significant change in the content in the most potent odor-active compounds was observed compared to the pH 7 -N -D HMM solution ($p > 0.05$) except for (Z)-6-octen-2-one whose abundance dropped by 22.5% ($p < 0.05$). It is noteworthy to mention that the abundance of nine other compounds namely, 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, 2,3-pentanedione, pentanal, (Z)-4-heptenal, methional, benzaldehyde, octanal, 2-nonanone would decrease for the pH 7 -N +D HMM solution in comparison with the pH 7 -N -D one even if it was not perceived in terms of statistical differences. Besides, compared to the HMM solution at pH 7 just after dissolution, the abundance of the five following compounds dropped by at least 35% for the pH 7 -N +D HMM solution ($p < 0.05$): 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, pentanal, (Z)-4-heptenal and 2-nonanone. Concerning the effect of a deaerator treatment on the HMM solution stirred overnight with nitrogen (pH 7 +N +D), no significant difference was observed compared to the pH 7 +N -D HMM one ($p > 0.05$). Nevertheless, similarly to what was mentioned before, even if it was not perceived in terms of statistical differences, the abundance of 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, hexanal, (Z)-4-heptenal, heptanal, benzaldehyde, (Z)-6-octen-2-one, (E,E)-2,4-heptadienal, octanal and 2-nonanone

would decrease after the deaerator treatment as well. Moreover, compared to the HMH solution just after dissolution, the abundance of 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, pentanal, (Z)-4-heptenal and 2-nonanone dropped by at least 55% for the pH 7 +N +D HMH solution ($p < 0.05$). As the aim of a deaerator is to remove gas from a matrix, this device also takes part in the elimination of HMH odorous compounds due to their volatile state and this trend was confirmed for the most potent odor-active compounds of HMH as well as for TMA and DMA before. Furthermore, it is interesting to note that the pH 7 -N +D and pH 7 +N +D HMH solutions had a similar content ($p > 0.05$). This indicated that, similarly to DMA, TMA and TMAO, there was no synergistic effect between the overnight stirring, with or without nitrogen, and the deaerator treatment for the HMH solutions at pH 7 and this was confirmed by statistical analyses ($p > 0.05$). In addition to the aforementioned treatments, another one consisting in an alkalization step to pH 10 of the pH 7 -N +D HMH solution was conducted. This treatment resulted in a decrease in hexanal, (E,Z)-2,6-nonadienal ($p < 0.05$) and in the total removal of both (E,E)-2,4-heptadienal and octanal compared to the pH 7 -N +D HMH solution. Interestingly, compared to the HMH solution at pH 7 just after dissolution, the alkalized pH 7 -N +D HMH solution allowed a decrease from around 50 to 100% of these thirteen compounds: 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, 1-methyl-1H-tetrazole, 2,3-pentanedione, pentanal, hexanal, (Z)-4-heptenal, methional, benzaldehyde, (E,E)-2,4-heptadienal, octanal, 2-nonanone and (E,Z)-2,6-nonadienal ($p < 0.05$). Interestingly, the decreases in hexanal, (E,E)-2,4-heptadienal, octanal and (E,Z)-2,6-nonadienal were observed after the alkalization step of the pH 7 -N +D HMH solution and not directly on the pH 7 -N +D one after the deaerator treatment in comparison with the hydrolysate solution just after dissolution. This would mean that these four compounds would be more impacted by the addition of NaOH while the other ones would be more affected by the deaerator treatment. Therefore, it seems that the main removal mechanism of 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, pentanal, (Z)-4-heptenal, benzaldehyde and 2-nonanone would be simply linked to their volatile state at pH 7. Statistical analyses confirmed the high impact of deaerator treatment on 2-methylbutanal, pentanal and benzaldehyde ($p < 0.05$). Regarding the impact of NaOH addition, Todeschini *et al.* (2020) already observed a drop in the abundance of the most potent odor-active compounds of HMH while pH rose from 7 to 10 and formulated three hypotheses to explain such a decrease. The first one was that at pH 10, a certain part of volatile compounds would establish covalent bonds with the other constituents of HMH. The second one involved a potential alteration of these compounds due to the addition of NaOH resulting in hindering their detection. Finally, the last one dealt with their possible loss due to their volatile state following their promoted release under basic conditions similarly to DMA, TMA and TMAO [231]. Regarding the first hypothesis, as samples were collected for analyses just after the alkalization step of the pH 7 -N +D HMH solution, this should be too short in time to

allow the establishment of covalent bonds between hexanal, octanal, (E,E)-2,4-heptadienal and (E,Z)-2,6-nonadienal and the other constituents of HMH. This was corroborated by the study of Zhou *et al.* (1999) in which they observed the development of covalent bindings between unsaturated aldehydes and amino acids materials after one hour of incubation [236]. Furthermore, among aldehyde compounds, those that are the most described to be involved in covalent bonds are monounsaturated ones [154]. Indeed, the presence of a carbonyl group C=O, in addition to the double covalent bonds between two carbon atoms C=C, would make them more reactive than saturated aldehydes, such as hexanal and octanal, especially in the presence of nucleophilic molecules [154,237]. With regards to (E,E)-2,4-heptadienal and (E,Z)-2,6-nonadienal, their propensity to establish covalent bonds with other nonvolatile molecules was less described in the literature. The fact that (E,E)-2,4-heptadienal and (E,Z)-2,6-nonadienal are polyunsaturated aldehydes may lead to steric effect decreasing their potential to easily react with nucleophilic compounds on the contrary to monounsaturated ones. Thus, this would indicate that this first hypothesis could not be involved in the present case. To totally exclude this hypothesis, it could be relevant to analyze the amino acid content of HMH. Indeed, since amino-acid-containing materials are the main constituents establishing covalent bonds with aldehyde compounds resulting in the formation of Schiff bases and Michael adducts [236,237], an absence of change regarding the amino acid content of HMH at pH 10 would confirm that this hypothesis is not appropriate. Then, regarding the second hypothesis involving an alteration of volatile compounds by NaOH, it seems that this explanation would not be consistent in that case due to the too short time lapse between the alkalization of the HMH solution and the sampling as well. Therefore, the most plausible explanation would be linked to the third hypothesis, at that stage, and would be that the decreases in hexanal, octanal, (E,E)-2,4-heptadienal and (E,Z)-2,6-nonadienal imply their simple loss following the addition of NaOH. Nonetheless, based on the results obtained for DMA, TMA and TMAO, an increase in their contents was observed at pH 10 following their better release under basic conditions and thus, their better recovery. Thus, this might rather indicate that nitrogenous and aldehyde compounds would evidence opposite behavior as a function of pH value and that it would not be appropriate to extrapolate the properties of nitrogenous compounds to aldehyde ones leading to reject this third hypothesis as well. In fact, while numerous studies reported the impact of basic pH on the volatility of nitrogenous compounds, no data are available regarding those of aldehydes except for the study of Shimoda *et al.* (1996), in which they reported a decrease in the concentration of aldehydes of fish sauce under alkaline conditions in comparison with acid ones [238]. Therefore, this led to formulate a new hypothesis regarding the observed decrease in the content in aldehydes. This new hypothesis would be that, on the contrary to nitrogenous compounds, aldehyde ones would evidence a drop in their volatile state hampering their optimal release and thus bringing about their

underestimated detection at basic pH whereas acid conditions would promote their release. Thus, the lower content in hexanal, octanal, (E,E)-2,4-heptadienal and (E,Z)-2,6-nonadienal observed for the pH 7 -N +D + alkalization pH 10 condition would be related, in fact, to a decrease in their volatile state. As a whole, it appeared from the results that the most potent odor-active compounds of HMH at pH 7 were in general more impacted by the deaerator treatment independently of the condition of stirring. Thus, the deaerator treatment could be performed just right after dissolution of HMH powder, without an overnight stirring and without the use of nitrogen, and this would allow to save time as well as materials.

Regarding HMH at pH 10, no change was globally perceived between the HMH solution at pH 10 after dissolution and after the overnight stirring with (pH 10 +N -D) or without nitrogen (pH 10 -N -D) ($p > 0.05$) except for hexanal, (Z)-4-heptenal and octanal whose content tended to decrease for the pH 10 -N -D condition. Similarly to what was mentioned for HMH at pH 7, this would imply that independently of the presence of nitrogen, an overnight stirring was not sufficient enough to increase the release of most of the targeted compounds and that most of them were distributed rapidly in solution after dissolution as well. On the contrary, regarding hexanal, (Z)-4-heptenal and octanal, the observed decrease might indicate that the stirring step in absence of nitrogen either led to a loss of these compounds probably related to their volatile state or promoted their interactions with other constituents of HMH resulting in their lower detection. In addition, the global absence of difference between the HMH solutions stirred with and without nitrogen would indicate that at pH 10, nitrogen had no impact on the abundance of the targeted compounds similarly to what was observed at pH 7. Interestingly, the comparison between pH 7 and pH 10 conditions showed that the abundance of 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, pentanal, hexanal, (Z)-4-heptenal and octanal varied as a function of both pH and overnight stirring independently of the presence of nitrogen ($p < 0.05$). Nevertheless, depending on the aldehyde compound, the combination of these two factors did not evidence the same impact. Indeed, the content in 3-methylbutanal, 2-methylbutanal and pentanal tended to decrease during the overnight stirring at pH 7 but not at pH 10. On the contrary, the content in hexanal, (Z)-4-heptenal and octanal tended to decrease during the overnight stirring at pH 10 but not at pH 7. This might indicate that the impact of the combination of pH and stirring conditions on aldehyde compounds would depend mainly on their chain length. These results seem to give credit to the new hypothesis formulated previously indicating that aldehydes would evidence a drop in their volatile state under alkaline conditions hampering their optimal release whereas acid conditions would enhance their release. Based on this, it looks like that the potential decrease in the volatility of aldehydes involving six carbon atoms or more in their chain length under basic pH would promote

their propensity to interact with the components of HMH. This trend would not be as obvious to be observed for 3-methylbutanal, 2-methylbutanal and pentanal since these aldehydes involve a smaller chain length and therefore, present by their nature, a higher volatility regardless of the pH conditions. On the contrary, it seems that the potential increase in volatility of aldehydes under acid conditions, would be perceived even at neutral pH for compounds involving five carbon in their chain length or less, as at pH 7, a decrease in the abundance of 3-methylbutanal, 2-methylbutanal and pentanal was observed. To confirm this new hypothesis, it could be relevant to conduct a further acidification step on an alkalized solution to verify the impact on the concentration of aldehydes. Surprisingly, the abundance of heptanal, a saturated aldehyde with structure similar to hexanal and octanal, was not shown to vary as a function of both pH and stirring ($p > 0.05$). The fact that the standard deviation, for the condition pH 7 -N -D, was quite high compared to the corresponding abundance value of heptanal might have introduced a bias in the results explaining that such a trend was not observed in that case. Then, regarding the effect of a deaerator treatment on the HMH solution stirred overnight without nitrogen (pH 10 -N +D), only the abundance of (Z)-6-octen-2-one and 2-nonanone dropped significantly compared to the pH 10 -N -D HMH solution ($p < 0.05$). In addition, even if it was not perceived in terms of statistical differences, the abundance of 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, 2,3-pentanedione, pentanal, hexanal and benzaldehyde would decrease as well between the pH 10 -N -D and pH 10 -N +D HMH solutions. Compared to HMH solution at pH 10 just after dissolution, no change in the targeted compounds content was observed ($p > 0.05$) except for (Z)-6-octen-2-one and 2-nonanone whose abundance dropped by 68 and 80% respectively in pH 10 -N +D HMH ($p < 0.05$). Concerning the impact of a deaerator treatment on HMH solution at pH 10 stirred overnight with nitrogen (pH 10 +N +D), only a decrease in the content in (Z)-6-octen-2-one and 2-nonanone was observed compared to the pH 10 +N -D HMH solution ($p < 0.05$). Besides, a downward trend could be observed as well for 3-methylbutanal, pentanal, (Z)-4-heptenal and benzaldehyde even if it was not confirmed by statistical analyses. Compared to HMH solution at pH 10 just after dissolution, no change was observed ($p > 0.05$) for the pH 10 +N +D HMH solution except for (Z)-6-octen-2-one and 2-nonanone whose abundance dropped by 55 and 70% respectively. As mentioned previously, as deaerator aims to remove gas, volatile compounds are removed at the same time and this was globally confirmed for the most potent odor-active compounds of HMH at pH 10 as well. Besides, no difference was observed between the pH 10 -N +D and pH 10 +N +D HMH solutions ($p > 0.05$). Similarly to what was mentioned for the pH 7 -N +D and pH 7 +N +D solutions, this was representative of an absence of synergy between the overnight stirring, with or without nitrogen, and the deaerator treatment for the HMH solutions at pH 10 and this was corroborated by statistical results ($p > 0.05$). It appeared from these results that the contents in (Z)-6-octen-2-one and 2-nonanone of

the studied hydrolysate were the most impacted by a deaerator treatment at pH 10. However, this trend was not observed for 2,3-pentanedione, another targeted ketone compound, whose abundance mainly varied according to the pH value resulting in a lower content at pH 10 than at pH 7, independently of the tested conditions. Interestingly, regarding the solutions treated by deaerator at pH 7 and 10, it appeared, at first glance, that this treatment would be more effective to reduce the content in certain aldehydes such as 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, pentanal or benzaldehyde at neutral pH as the final abundance of these compounds were lower at pH 7 than at pH 10. Nevertheless, statistical results revealed no significant effect of the combination of both pH and deaerator ($p > 0.05$). This even more corroborated the assumption that aldehydes would be better released at acid pH. For short-chain aldehydes such as 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, pentanal, this would be already visible at neutral pH allowing a better removal rate of the deaerator treatment. Despite the fact that the deaerator treatment was effective to decrease the content in most of the targeted compounds, regardless of the pH value, for other compounds such as methional, (E,E)-2,4-heptadienal and (E,Z)-2,6-nonadienal, no effect was observed ($p > 0.05$). In fact, concerning these three compounds, only pH value had a great importance on their abundance ($p < 0.05$) leading to a lower content at pH 10 than at pH 7. On the one hand, the impact of basic conditions on (E,E)-2,4-heptadienal and (E,Z)-2,6-nonadienal was already observed for the pH 7 -N +D solution that underwent a further alkalization step. The fact that for all the treatments studied at pH 10, none of them had an impact on the abundance of (E,E)-2,4-heptadienal and (E,Z)-2,6-nonadienal would give credit to the hypothesis involving a decrease in their volatile state due to basic conditions explaining, thus, the inefficiency of these treatments. At that stage, it is worth to note as well, that the content in most of the targeted aldehydes was globally lower for the pH 7 -N +D + alkalization pH 10 condition than for the other conditions at pH 10. This corroborates the hypothesis involving an increase in the volatile state of aldehydes at acid pH and a decrease at basic pH. Indeed, based on the results obtained for the pH 7 -N +D + alkalization pH 10 condition, it appeared that performing a deaerator treatment on a HMH solution at neutral pH would lead to a high performance of the deaerator device to remove aldehydes based on the increase in their volatility and conducting a further alkalization step would bring about an additional decrease based, in that case, on a decrease in their volatile state resulting in their lower detection. On the other hand, regarding methional, none of the treatments conducted on HMH at pH 10 had an impact on its content and its abundance remained steady for all of them. Besides, as mentioned before, the content in methional was globally lower at pH 10 than at pH 7. Nevertheless, it was supposed previously that basic conditions would decrease the volatility of aldehyde compounds but this would be less perceived for short-chain compounds involving five atoms of carbon in their chain or less. Methional is an aldehyde with four atoms of carbon in its chain but it presents, as well,

the particularity to be a sulfur-containing compound. This difference in terms of structure could explain the fact that methional did not experiment the same behavior as other aldehydes with similar chain length. Finally, none of the conditions at pH 10 evidenced the presence of 1-methyl-1H-tetrazole even after the dissolution of HMH powder on the contrary to what was observed at pH 7. Since this compound is a nitrogenous one and since this chemical group is known to experiment an increase in volatility under basic conditions, this compound was probably lost very quickly at pH 10 explaining its was not detected afterwards.

Globally, it appeared from these results that the overnight stirring step, regardless of the use of nitrogen, had globally no impact on the most potent odor-active compounds of HMH at both tested pH values. Therefore, in case of further treatment, it would be possible to conduct it on a solution directly after dissolution. It appears as well from the results that the deaerator was an effective mean to reduce the content in the targeted compounds. In a deodorization context, the treatments allowing the best removal of these compounds were the pH 7 -N +D, pH 7 +N +D and pH 7 -N +D + alkalization pH 10 ones. Interestingly, while comparing these treatments with other deodorization strategies targeting similar compounds, those identified in this study presented a higher efficiency. For instance, the pH 7 -N +D + alkalization pH 10 condition led to a decrease in hexanal of 75% in comparison with the pH 10 after dissolution condition whereas Pan *et al.* (2018) reported a decrease in this compound of 21% using activated carbon to deodorize the skin gelatin of tiger puffer fish [116]. Using another adsorption strategy based on the use of zeolites, Song *et al.* (2018) managed to remove 35% of the hexanal content of fish oil originating from tuna and anchovies by-products [87]. Güner *et al.* (2019) used adsorption on zeolites to remove (E,E)-2,4-heptadienal from fish oil and reached a removal rate of 60% [191] while in the present case, a total removal of this compound was obtained with the application of the pH 7 -N +D + alkalization pH 10 condition. The pH 7 +N +D condition brought about a decrease in 3-methylbutanal and 2-methylbutanal of respectively 60 and 85% in comparison with the pH 7 after dissolution condition. Shimoda *et al.* (2000) only reached a removal level of 3-methylbutanal of 45% in fish sauce with an extraction process based on the use of supercritical carbon dioxide [97] whereas the use of the bacterium *Staphylococcus xylosus* had no effect on the 2-methylbutanal content of fish sauce [94]. Similarly to what was mentioned previously for TMA, this seems to indicate the high performance of these new deodorization strategies to be applied to complex matrices.

Table 4-2. Abundance of the most potent odor-active compounds of HMH ($\times 10^7$ Arbitrary Unit (U.A.)) after dissolution and after the different treatments (mean \pm standard deviation)

	pH 7 after dissolution	pH 7 -N -D	pH 7 -N +D	pH 7 +N -D	pH 7 +N +D	pH 7 -N +D + alkalization pH10	pH 10 after dissolution	pH 10 -N -D	pH 10 -N +D	pH 10 +N -D	pH 10 +N +D
3-Methylbutanal	4.87 \pm 0.72 ^a	4.24 \pm 0.90 ^{abc}	3.16 \pm 0.10 ^{cde}	3.34 \pm 0.27 ^{bcd}	2.05 \pm 0.08 ^e	2.44 \pm 0.38 ^{de}	4.37 \pm 0.64 ^{abc}	4.46 \pm 0.27 ^{abc}	3.74 \pm 0.05 ^{abcd}	4.72 \pm 0.53 ^a	4.60 \pm 0.22 ^{ab}
2-Methylbutanal	2.57 \pm 0.52 ^a	1.47 \pm 0.69 ^{bc}	0.71 \pm 0.06 ^{cd}	0.74 \pm 0.15 ^{cd}	0.39 \pm 0.05 ^d	0.82 \pm 0.14 ^{cd}	2.24 \pm 0.36 ^{ab}	2.44 \pm 0.19 ^{ab}	1.67 \pm 0.14 ^{abc}	2.43 \pm 0.58 ^{ab}	2.14 \pm 0.15 ^{ab}
1-Methyl-1H-tetrazole	3.04 \pm 0.64 ^a	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b
2,3-Pentanedione	1.63 \pm 0.51 ^a	1.70 \pm 0.46 ^a	1.24 \pm 0.32 ^{abc}	1.37 \pm 0.04 ^{ab}	1.40 \pm 0.29 ^{ab}	0.37 \pm 0.13 ^{bcd}	0.42 \pm 0.20 ^{bcd}	0.32 \pm 0.01 ^{bcd}	0.18 \pm 0.01 ^d	0.30 \pm 0.09 ^{cd}	0.22 \pm 0.08 ^{cd}
Pentanal	2.59 \pm 0.51 ^a	1.66 \pm 0.51 ^b	1.12 \pm 0.29 ^{bc}	1.26 \pm 0.09 ^{bc}	1.17 \pm 0.28 ^{bc}	0.55 \pm 0.18 ^c	1.49 \pm 0.41 ^b	1.48 \pm 0.15 ^b	1.05 \pm 0.07 ^{bc}	1.80 \pm 0.40 ^{ab}	1.59 \pm 0.07 ^b
Hexanal	2.86 \pm 0.86 ^a	2.47 \pm 0.49 ^{abc}	2.48 \pm 0.56 ^{ab}	2.66 \pm 0.20 ^{ab}	1.81 \pm 0.14 ^{abcd}	0.75 \pm 0.31 ^d	2.03 \pm 0.39 ^{abc}	1.58 \pm 0.19 ^{bcd}	1.26 \pm 0.10 ^{cd}	2.15 \pm 0.52 ^{abc}	2.02 \pm 0.11 ^{abc}
(Z)-4-Heptenal	2.89 \pm 0.79 ^a	2.80 \pm 0.49 ^{ab}	1.30 \pm 0.53 ^{bcd}	2.07 \pm 0.24 ^{abc}	1.27 \pm 0.06 ^{cd}	0.52 \pm 0.31 ^d	1.82 \pm 0.23 ^{abc}	1.39 \pm 0.21 ^{cd}	1.10 \pm 0.16 ^{cd}	1.93 \pm 0.63 ^{abc}	1.64 \pm 0.16 ^{bcd}
Heptanal	0.58 \pm 0.38 ^{ab}	0.56 \pm 0.38 ^{ab}	0.53 \pm 0.22 ^{ab}	0.77 \pm 0.11 ^a	0.52 \pm 0.14 ^{ab}	0.14 \pm 0.10 ^b	0.38 \pm 0.10 ^{ab}	0.48 \pm 0.03 ^{ab}	0.33 \pm 0.09 ^{ab}	0.43 \pm 0.06 ^{ab}	0.50 \pm 0.09 ^{ab}
Methional	0.053 \pm 0.020 ^{ab}	0.052 \pm 0.023 ^{ab}	0.039 \pm 0.018 ^{abc}	0.056 \pm 0.013 ^{ab}	0.072 \pm 0.026 ^a	0.009 \pm 0.007 ^c	0.016 \pm 0.006 ^{bc}	0.015 \pm 0.001 ^{bc}	0.015 \pm 0.007 ^{bc}	0.015 \pm 0.008 ^{bc}	0.015 \pm 0.002 ^{bc}
Benzaldehyde	4.22 \pm 1.65 ^{bc}	5.00 \pm 1.30 ^{abc}	2.32 \pm 0.32 ^{cd}	4.52 \pm 0.20 ^{abc}	2.57 \pm 0.24 ^{cd}	1.44 \pm 0.71 ^d	3.95 \pm 0.50 ^{bcd}	5.56 \pm 0.72 ^{ab}	4.86 \pm 0.25 ^{abc}	6.97 \pm 1.83 ^a	5.82 \pm 0.22 ^{ab}
(Z)-6-Octen-2-one	0.58 \pm 0.24 ^{cd}	0.80 \pm 0.28 ^{bc}	0.18 \pm 0.08 ^d	0.52 \pm 0.03 ^{cd}	0.085 \pm 0.036 ^d	0.40 \pm 0.25 ^{cd}	1.37 \pm 0.23 ^{ab}	1.29 \pm 0.18 ^{ab}	0.44 \pm 0.15 ^{cd}	1.51 \pm 0.39 ^a	0.62 \pm 0.08 ^{cd}
(E,E)-2,4-Heptadienal	0.15 \pm 0.12 ^{ab}	0.13 \pm 0.02 ^{ab}	0.37 \pm 0.31 ^{ab}	0.49 \pm 0.35 ^a	0.10 \pm 0.01 ^{ab}	0.00 \pm 0.00 ^b	0.015 \pm 0.005 ^b	0.028 \pm 0.028 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.015 \pm 0.017 ^b	0.019 \pm 0.01 ^b
Octanal	0.70 \pm 0.38 ^a	0.72 \pm 0.12 ^a	0.56 \pm 0.23 ^{ab}	0.72 \pm 0.08 ^a	0.53 \pm 0.06 ^{ab}	0.00 \pm 0.00 ^c	0.40 \pm 0.20 ^{abc}	0.17 \pm 0.07 ^{bc}	0.31 \pm 0.03 ^{abc}	0.63 \pm 0.19 ^{ab}	0.53 \pm 0.07 ^{ab}
2-Nonanone	0.73 \pm 0.32 ^{ab}	0.68 \pm 0.21 ^{abc}	0.15 \pm 0.09 ^{cd}	0.49 \pm 0.13 ^{abcd}	0.088 \pm 0.024 ^d	0.17 \pm 0.10 ^{cd}	0.97 \pm 0.27 ^a	0.93 \pm 0.05 ^a	0.19 \pm 0.04 ^{bcd}	0.99 \pm 0.39 ^a	0.28 \pm 0.02 ^{bcd}
(E,Z)-2,6-Nonadienal	0.35 \pm 0.15 ^a	0.45 \pm 0.01 ^a	0.47 \pm 0.23 ^a	0.36 \pm 0.06 ^a	0.41 \pm 0.03 ^a	0.032 \pm 0.023 ^b	0.065 \pm 0.016 ^b	0.045 \pm 0.005 ^b	0.047 \pm 0.011 ^b	0.074 \pm 0.021 ^b	0.070 \pm 0.023 ^b

Values within the same row followed by different letters (a-e) are significantly different $p < 0.05$ (Tukey Test)

4.3.2. Sensory Analysis

To assess if differences observed by the HS-GC-NPD and GC-MS analyses were perceived by humans, sensory experiments were conducted. Among the eleven tested conditions, the five ones considered for this purpose were the following: pH 7 after dissolution, pH 10 after dissolution, pH 7 -N +D + alkalization pH 10, pH 7 +N +D and pH 10 -N +D conditions. The odorous S scores given by the panel members for each condition are presented in Table 4-3. Results revealed that panel members recognized the pH 7 and pH 10 after dissolution conditions as being the most odorous ones in comparison with the other tested conditions ($p < 0.05$). This was consistent with both HS-GC-NPD and GC-MS results. Indeed, the pH 7 after dissolution condition depicted the highest content in the most potent odor-active compounds of HMMH while the pH 10 after dissolution one showed the highest content in TMA and DMA, two nitrogenous compounds well-known for their contribution to the off-flavors of marine products [13,105]. Then, the pH 10 -N +D and pH 7 -N +D + alkalization pH 10 conditions were identified as being the least odorous ones compared to the other selected conditions ($p < 0.05$). On the one hand, with regards to the pH 10 -N +D condition, the fact that this latter was perceived as the least odorous was in line with its lowest content in both TMA and DMA since, as mentioned before, these compounds are characterized by an unappealing smell that can be easily detected [13,105]. In addition, this condition showed, as well, a lower content in both (E,E)-2,4-heptadienal and (E,Z)-2,6-nonadienal in comparison with the conditions at pH 7. Interestingly, while these two compounds are present together, (E,Z)-2,6-nonadienal, initially characterized by a cucumber-like smell [125], boosts the off-flavor of (E,E)-2,4-heptadienal [126,239]. Thus, the lower abundance of these two alkadienals for the pH 10 -N +D might also explain its lowest S score. It is important to note that other synergistic effects may happen between the different targeted compounds but only few studies dealing with this problematic were reported in the literature. On the other hand, the low value of S score given by the panel to the pH 7 -N +D + alkalization pH 10 condition could be related to its low content in (E,E)-2,4-heptadienal and (E,Z)-2,6-nonadienal as well. Moreover, on the contrary to the pH 10 -N +D condition, the pH 7 -N +D + alkalization pH 10 one, showed a high content in both TMA and DMA. Nonetheless, the fact that this latter condition showed, as well, an overall lower content in the most potent odor-active compounds of HMMH due to the general efficiency of the deaerator treatment at pH 7 to remove them, may explain the reason why this condition was chosen as one of the least odorous by the panel members. At that stage, it is worth to note that (Z)-4-heptenal was one of the most potent odor-active compounds whose abundance was lower for the pH 7 -N +D + alkalization pH 10 condition. Interestingly, (Z)-4-heptenal was reported in the literature to have the capacity to increase the smell of other compounds rather than being perceptible on its own

[125,239]. Thus, this might have an impact as well on the overall lower smell of the pH 7 -N +D + alkalization pH 10 condition. Finally, the pH 7 +N +D condition received an intermediate S score and this could be representative of its overall lower content in the most potent odor-active compounds of HMH, similarly to what was mentioned for the pH 7 -N +D + alkalization pH 10 condition. However, its higher content in (E,E)-2,4-heptadienal and (E,Z)-2,6-nonadienal could explain the reason why this condition was globally perceived as being more odorous than the pH 7 -N +D + alkalization pH 10 and pH 10 -N +D ones. Therefore, it appeared that sensory analysis results were very consistent with those obtained by analytical tools and confirmed, in particular, the efficiency of the pH 7 -N +D + alkalization pH 10 and pH 10 -N +D conditions to deodorize HMH.

Table 4-3. S scores given by the twenty panel members for the five assessed conditions

	pH 7 after dissolution	pH 10 after dissolution	pH 7 +N +D	pH 7 -N +D + alkalization pH 10	pH 10 -N +D
S scores	80.0 ^a	70.0 ^{ab}	60.0 ^{bc}	50 ^{cd}	40.0 ^d

Values within the same row followed by different letters (a-d) are significantly different $p < 0.05$ (Wilcoxon test)

4.4. Conclusion

This research aimed to deepen the knowledge regarding the impacts of pH, overnight stirring with nitrogen and treatment by deaerator on DMA, TMA and TMAO as well as on the most potent odor-active compounds of HMH to develop a new effective and easy-to-use deodorization method. Results showed that pH had a significant impact on the abundance of these compounds. Nevertheless, depending on the chemical group involved, different trends could be observed. Indeed, the nitrogenous compounds, namely DMA, TMA and TMAO, showed higher detected concentrations at pH 10 than at pH 7 due to the effect of alkaline conditions to increase their free contents while the opposite trend was observed for the most potent odor-active compounds of HMH evidencing higher detected concentrations at pH 7. In addition, it appeared from the results that the overnight stirring with or without nitrogen had globally no impact on the targeted compounds compared to the hydrolysate solution just after dissolution at a given pH value. Therefore, in case of further treatment, this latter could be conducted on the solution after dissolution directly. Interestingly, for certain targeted aldehydes, namely 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, pentanal, hexanal, (Z)-4-heptenal and octanal, their abundance varied as a function of both pH and overnight stirring. However, depending on the chain length of the aldehyde compound, different behaviors could be observed. In fact, regarding aldehydes involving five atoms of carbon in their chain length or less, the overnight stirring

at pH 7 led to a loss of these compounds due to the increase in their volatile state under this pH condition. On the contrary, aldehydes involving six atoms of carbon or more in their chain length depicted a lower content following the overnight stirring at pH 10. In that case, the observed drop could be related to their propensity to better interact with the other components of HMH due to their lower volatility under alkaline conditions. Then, the deaerator treatment had a huge impact on the abundance of the targeted compounds. More precisely, the deaerator treatment was more effective at pH 10 to remove DMA and TMA due to their higher release under basic conditions while the opposite trend was observed for the most potent odor-active compounds of HMH whose removal was superior at pH 7 due to their higher volatility at this pH value. As a whole, the treatments showing the lowest content in DMA, TMA and TMAO were the pH 10 -N +D and pH 10 +N +D ones while those evidencing the lowest content in the most potent odor-active compounds of HMH were the pH 7 -N +D, pH 7 +N +D and pH 7 -N +D + alkalization pH 10 ones. Sensory analysis, carried out to confirm the differences identified by analytical tools by human perception, reported the pH 10 -N +D and pH 7 -N +D + alkalization pH 10 conditions as the least odorous ones and thus confirmed the results obtained by HS-GC-NPD and GC-MS procedures. Therefore, it effectively appeared from this study that conducting a deaerator treatment either on a HMH solution preliminary alkalized or on a HMH one at neutral pH that underwent then an additional alkalization step could be an effective way to reduce the odorous content of this matrix. To deepen the knowledge regarding these promising results, it would be relevant to consider using KOH instead of NaOH since the dissociation of this latter results in the generation of Na⁺ species closely related to hypertension concerns. In addition, it would be interesting to further investigate the potential effects of the pH change resulting from the alkalization procedure especially regarding the bioactivities of HMH proven, so far, for pH closed to neutral one.

4.5. Acknowledgements

The NSERC Industrial Research Chair on ElectroMembrane processes aiming the ecoefficiency improvement of biofood production lines is acknowledged. The authors are grateful to Ocean NutraSciences for providing the herring milt hydrolysate powder. The authors thank Diane GAGNON, professional researcher at Université Laval, for her involvement in this project. Also, the authors thank Thibaud GEOFFROY for his assistance regarding statistical analyses.

Atteinte des objectifs et avancement des connaissances

Les résultats obtenus lors de cette étude ont permis de démontrer que le brassage sous inertie pendant une nuit n'avait aucun impact sur le contenu odorant ciblé suggérant alors qu'il ne sera plus nécessaire d'avoir recours à un tel type de pré-traitement en amont du traitement de désaération. Également, les résultats de cette étude ont permis de préciser les mécanismes régissant le comportement des composés odorants ciblés en fonction des conditions de pH. En effet, les composés considérés comme principaux contributeurs à l'odeur de l'hydrolysat testé semblent être plus facilement éliminables par le désaérateur lorsque le traitement est conduit à pH 7 en raison de leur meilleure disponibilité sous de telles conditions. A contrario, les composés azotés, et plus spécifiquement la TMA, apparaissent comme étant davantage disponibles en conditions basiques expliquant alors leur meilleure élimination lorsque le traitement par désaérateur est mené à pH 10. Le TMAO quant à lui déroge à cette tendance puisque cette étude a permis de mettre en avant la capacité de cette espèce zwitterion à davantage interagir par l'intermédiaire de liaisons électrostatiques avec les autres constituants de l'hydrolysat et donc, d'être moins facilement éliminable lors d'un traitement par désaérateur et ce, indépendamment des conditions de pH. Ainsi, à ce stade, les traitements les plus performants afin de désodoriser l'hydrolysat de laitance de hareng ont été d'une part le traitement par désaérateur opéré en conditions basiques et, d'autre part, le traitement par désaérateur mené à pH 7 et combiné à une basification subséquente. De plus, la performance de ces traitements a été confirmée par des analyses sensorielles. Ainsi, cette seconde étude a permis encore une fois de satisfaire à l'objectif 1 visant à caractériser les molécules odorantes présentes dans l'hydrolysat de laitance de hareng et dans les fractions après traitements. Également, celle-ci a permis de répondre en partie à l'objectif 2 visant à étudier l'impact du type de pré-traitement (brassage sous inertie, pH, nature du sel) sur le contenu odorant de l'hydrolysat. De plus, les éléments de réponse apportés lors de la première étude concernant l'objectif 3 visant à étudier l'impact de la technologie de désodorisation (électrodialyse, désaérateur) et de ses paramètres (courant électrique, pH, nature du sel) sur le contenu odorant de l'hydrolysat ont été ici confirmés. Cette étude a aussi permis d'apporter des éléments de réponse relatifs à l'objectif 4 destiné à identifier les mécanismes régissant le comportement des molécules odorantes identifiées dans l'hydrolysat en fonction du type de pré-traitement, de la technologie de désodorisation et de ses paramètres. Finalement, cette étude a également permis de satisfaire à l'objectif 5 qui, s'est intéressé à caractériser l'impact du type de pré-traitement, de la technologie de désodorisation et de ses paramètres sur les propriétés sensorielles (odeur) de l'hydrolysat.

Ces résultats ont ainsi contribué à l'avancement des connaissances scientifiques puisqu'ils ont confirmé qu'il était possible d'avoir recours au procédé de désaération à des fins de désodorisation. De plus, ces résultats ont permis d'apporter une meilleure compréhension des mécanismes régissant le comportement des composés odorants ciblés en fonction notamment du type de pré-traitement appliqué, de la technologie de désodorisation et de ses paramètres. Finalement, cette étude a permis, pour la première fois, la mise en lumière de la corroboration existant entre les résultats obtenus par les procédures analytique et sensorielle.

Chapitre 5 : Impacts du pH et de la substitution de la base lors de traitements de désaération d'un hydrolysate de laitance de hareng sur le contenu odorant et l'activité antioxydante

L'article présenté dans ce chapitre est intitulé :

« Impacts of pH and Base Substitution during Deaerator Treatments of Herring Milt Hydrolysate on the Odorous Content and the Antioxidant Activity ». Cet article est en attente de décision quant à la soumission d'un brevet.

Les auteurs de cet article sont : Sarah Todeschini, Véronique Perreault, Charles Goulet, Mélanie Bouchard, Pascal Dubé, Yvan Boutin et Laurent Bazinet.

Transition Contextuelle

Les chapitres qui précèdent ont permis de démontrer la performance du procédé de désaération à œuvrer en faveur de la désodorisation de l'hydrolysate de laitance de hareng. Néanmoins, il a également pu être démontré que selon la valeur de pH sous laquelle le procédé de désaération était conduit, il se produisait soit une élimination optimale des principaux contributeurs à l'odeur de l'hydrolysate soit une élimination optimale des composés azotés, principalement la TMA. Plus précisément, le traitement de désaération à pH 7 conduisait à une diminution optimale du contenu en principaux contributeurs à l'odeur de l'hydrolysate de laitance de hareng tandis que le traitement à pH 10 conduisait à une diminution optimale du contenu en TMA. Ainsi, ceci laisse à penser que la combinaison de traitements de désaération en conditions neutre et basique serait l'avenue la plus optimale afin de conduire à la diminution simultanée des principaux contributeurs à l'odeur et des composés azotés. Toutefois, il a été constaté, d'après le chapitre précédent, que la conduite d'un traitement de désaération à pH 10 permettait d'éliminer davantage de TMA que de DMA. Ceci a été attribué au fait que sous de telles conditions de pH, la DMA se trouvait toujours potentiellement impliquée dans des interactions avec les autres constituants de l'hydrolysate de laitance de hareng ce qui, empêcherait son élimination optimale. Afin de pallier cette contrainte, il serait pertinent d'opérer le traitement de désaération à pH 11, valeur de pH sous laquelle la molécule de DMA n'est plus chargée et, par voie de conséquence, se trouve dans un état davantage disponible. Également, lorsqu'un traitement de désaération est conduit en conditions basiques, la basification de la solution d'hydrolysate est menée avec de l'hydroxyde de sodium (NaOH). Or, cette espèce génère des ions sodium (Na^+) positivement corrélés à la pathologie d'hypertension. Ainsi, afin de pallier cette contrainte, il apparaît pertinent d'évaluer le recours à une autre espèce chimique telle que l'hydroxyde de potassium (KOH) afin de procéder à la basification. Finalement, l'objectif d'une méthode de désodorisation étant d'éliminer les composés odorants sans nuire au potentiel bioactif de la matrice traitée, il demeure également indispensable de connaître les conséquences d'un tel procédé sur ses propriétés.

Dans un tel contexte, la présente étude avait pour objectifs (1) d'évaluer l'impact de la combinaison de traitements de désaération en conditions neutre et basique sur le taux d'élimination des composés odorants de l'hydrolysate de laitance de hareng, (2) d'étudier les effets de la substitution du NaOH par du KOH sur le contenu odorant de l'hydrolysate et sur la performance du procédé de désaération, (3) d'évaluer les conséquences de l'augmentation du pH de 10 à 11 sur le taux d'élimination de la TMA et de la DMA lors du traitement par désaérateur, (4) d'identifier les mécanismes mis en jeu dans la libération ou la rétention des molécules à l'étude, (5) de caractériser

les impacts de ces conditions sur les propriétés olfactives (odeur) de l'hydrolysat et, (6) d'évaluer les impacts des traitements de désodorisation sur les propriétés antioxydantes de l'hydrolysat.

Résumé

Cette étude visait à optimiser la méthode de désodorisation par désaération appliquée à l'hydrolysate de laitance de hareng. Les résultats obtenus ont démontré que la combinaison de traitements de désaération en conditions neutre et basique était l'avenue la plus optimale afin de réduire le contenu odorant de cet hydrolysate qui, comprenait la DMA, la TMA, le TMAO ainsi que 15 composés, principalement des aldéhydes, considérés comme ayant une contribution majeure à l'odeur de cette matrice. La performance du traitement de désodorisation mis en œuvre a été confirmée par les analyses sensorielles. Aussi, il a pu être démontré que le traitement de désodorisation développé n'impactait pas la capacité antioxydante *in vitro* de l'hydrolysate.

Abstract

Herring milt hydrolysate (HMH), as many other fish hydrolysates, has lately gained a greater interest due to its bioactive potential. Nevertheless, its unpleasant smell, could, in the long term, limit its use. Therefore, there is an urgent need to develop an effective deodorization method. This study aimed to optimize a deodorization method based on the use of a deaerator by assessing the impacts of a combination of deaerator treatments at neutral and basic pHs, an increase in pH from 10 to 11 and a substitution of NaOH by KOH on the odorous content and the antioxidant activity of HMH. The odorous content of HMH involved DMA, TMA and TMAO as well as 15 other compounds belonging mainly to the aldehyde class and considered as main contributors to the odor of this matrix. Results showed that a deaerator treatment at neutral pH followed by another one at basic pH using hydroxide potassium for the alkalization step (pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15) were highly effective for the deodorization of HMH resulting in a decrease in the DMA and TMA contents of 70% while certain compounds considered as being the most potent odor-active ones of HMH such as 2,3-pentanedione, methional, (E,E)-2,4-heptadienal or (E,Z)-2,6-nonadienal were almost completely removed. The performance of the pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15 condition was confirmed by sensory analysis. Finally, this condition did not impact the antioxidant potential of HMH for which an ORAC value of $226.98 \pm 7.50 \mu\text{mol TE/g}$ and a DPPH value of $375.93 \pm 1.62 \mu\text{mol TE/g}$ corresponding to a DPPH scavenging activity of $92.86 \pm 0.41\%$ were obtained at a concentration of 0.5 mg/mL of peptides.

Keywords: Herring milt hydrolysate; Deodorization; Deaerator; Off-flavors; Trimethylamine; Dimethylamine; Trimethylamine Oxide; Antioxidant Activity

5.1. Introduction

Fish processing industry is of significant importance in many countries all over the world [240]. Over the past twenty years, the major growth in fish consumption has been responsible for the huge increase in the generation of by-products leading to environmental and disposal problems [7,240]. Fish by-products include mainly skin, head, bones, viscera, milt and can account for 70% of the fish fresh weight depending on the species involved [4,240]. In order to promote the valorization of these underutilized resources, their modification by chemicals or enzymes has been highly considered [4]. The resulting hydrolysates have gained a great interest since they have demonstrated a broad range of bioactivities including antioxidant, anticancer, antimicrobial, anti-inflammatory, antihypertensive, antidiabetic properties [241]. With regards to herring milt hydrolysate (HMH) more precisely, this latter has been reported to have antioxidant, anti-inflammatory and antidiabetic activities [7,9,10,242,243]. Therefore, HMH as well as other fish by-product hydrolysates have, definitely, a huge potential to be used as new ingredients in the food, nutraceutical, pharmaceutical and cosmetics sectors [4,241]. Nevertheless, in spite of their biological interest, fish by-products hydrolysates including HMH present the major drawback to be closely associated to off-flavors [118]. Since odor is a major criterium regarding the acceptance of a product by consumers, there is an urgent need to overcome this main issue [203,231].

Off-flavors in fish products and related products, such as hydrolysates, are generally ascribed to the contribution of several volatile, hydrophobic and low-molecular-weight (< 400 Da) compounds [12]. Among these compounds, trimethylamine (TMA) and dimethylamine (DMA) represent the most well-known agents responsible for unpleasant odors in fish resources [13,190]. Both TMA and DMA are generated by the breakdown of trimethylamine oxide (TMAO), an odorless substance occurring in marine fish species playing a major role in the osmoregulation and protein stabilization under high hydrostatic pressure [244]. Nevertheless, off-flavors in fish materials are not only due to the contribution of nitrogen-containing compounds since other chemical groups such as aldehydes, ketones, alcohols or sulfur-containing compounds have already been identified as being a major source of unpleasant odors as well [12]. With regards to HMH, the presence of TMA, DMA and TMAO has lately been demonstrated in addition to the major contribution to its odor of fifteen compounds belonging mainly to the aldehyde chemical group [231].

To overcome the problematic related to off-flavors in marine resources, several deodorization strategies have already been proposed including fermentation, ozonation or adsorption processes [183,245,246]. In spite of the fact that these strategies have demonstrated their relevance at different

degrees, they all seem to be associated with drawbacks hampering, thus, their extensive use. Recently, Todeschini *et al.* (2020;2021) [231,247] have demonstrated the potential of a deaerator to be used as a new HMH deodorization method. Indeed, they showed that the application of a deaerator treatment at pH 10 led to a 80% decrease in the TMA content of HMH while the application of a deaerator treatment at neutral pH was particularly efficient to reduce the content in its most potent odor-active compounds [247]. Based on this, it would be of interest to assess if the combination of treatments at both neutral and basic pHs could enhance the performance of this deodorization method. Besides, in the study of Todeschini *et al.* (2021) [247] the deaerator treatment at pH 10 did not lead to a DMA decrease similar as the TMA one probably due to the fact that DMA (pKa ~10.70) would be still involved in electrostatic interactions with other HMH components hampering, thus, its optimal removal by the deaerator. Therefore, conducting the deaerator treatment at a higher pH, such as pH 11, could be an avenue to release DMA from these potential interactions and increase its removal rate. Nonetheless, performing treatments under basic conditions implied the use of sodium hydroxide (NaOH), positively correlated to hypertension concerns due to the generation of Na⁺ species, to alkalize HMH. This issue could be addressed by substituting NaOH with other alkaline salts such as potassium hydroxide (KOH) but the impacts of this substitution on the deodorization performance should be evaluated. Finally, no information was reported regarding the potential effects of deaerator treatments as well as alkaline conditions on the bioactive potential of HMH. As mentioned before, HMH has been reported for demonstrating, in particular, antioxidant properties [7,242]. Since the aim of a deodorization method is to remove off-flavors without affecting the properties of the matrix of interest, the impacts of such treatments should be better considered especially those regarding the HMH antioxidant potential.

In this context, the present work aimed to optimize the deaerator deodorization method by 1) assessing the impacts of a combination of deaerator treatments at neutral and basic pHs on the removal rate of the odorous content of HMH; 2) studying the effects of the substitution of NaOH by KOH on the odorous content of HMH and on the deaerator performance; 3) evaluating the consequences of an increase in pH from 10 to 11 on the DMA and TMA removal rate by deaerator treatment under alkaline conditions; 4) characterize the impacts of such conditions on the olfactory properties (odor) of HMH and 5) assessing the impacts of the deodorization treatments on the antioxidant properties of HMH.

5.2. Materials and Methods

5.2.1. Materials

5.2.1.1. Chemicals

Hydrochloric acid (HCl), potassium hydroxide (KOH) and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) were purchased from VWR (Montréal, QC, Canada). Sodium hydroxide (NaOH), methylene chloride and nonyl acetate were obtained from Fisher (Montréal, QC, Canada). Helium was from Praxair (Mississauga, ON, Canada). DMA, TMA, TMAO, Trolox standards, 2,2'-azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride (AAPH) and fluorescein were supplied by Sigma-Aldrich (St-Louis, MO, USA). Oxygerm, Blizzard and Extrem solutions were from Sani Marc (Victoriaville, QC, Canada).

5.2.1.2. Herring Milt Hydrolysate (HMH)

HMH dry powder was obtained from Ocean NutraSciences (Matane, QC, Canada) and was stored at -30°C under vacuum and protected from light before its use. The chemical composition of HMH dry powder included $79.27 \pm 0.17\%$ of total nitrogen, $48.28 \pm 0.44\%$ of peptides, $18.48 \pm 1.27\%$ of lipids, $27.30 \pm 3.57\%$ of nucleic acids and $11.55 \pm 0.20\%$ of ashes [7].

5.2.2. Methods

5.2.2.1. Protocol

HMH solutions dissolved to 4% proteins (w/v) and whose initial pH of 7.3 was adjusted either to pH 7 with 6 M HCl or to pH 11 with 6 M NaOH or 6 M KOH were stirred for 15 min at 4°C before being treated by a deaerator device model ERV2 (Koruma, Neuenburg, Germany). Before use, the deaerator was decontaminated with an Oxygerm solution consisting of both organic acids and powerful oxidizers. Deaerator treatments were performed in closed circuit under 100 Torr for 30 min according to Todeschini *et al.* (2020) [231]. For the conditions implying a first deaerator treatment at pH 7 followed by another one at pH 11, each deaerator treatment was conducted for 15 min to maintain a short processing time. Besides, before undergoing the second 15-min deaerator treatment, the HMH solution basified to pH 11 either with 6 M NaOH or 6 M KOH was stirred 15 min at room temperature, in that case, for practical reasons. Samples were collected after the 15-min stirring at 4°C and then at each step of the protocol. They were stored at -30°C , protected from light, before being further analyzed in terms of volatile compound contents and antioxidant activity. All the tested conditions (Figure 5-1) were carried out in triplicate and in a random order. After each run, the

deaerator underwent a cleaning procedure involving Blizzard and Extrem solutions being respectively, a foaming chlorinated alkaline degreaser and a blend of sequestering, wetting agents and caustic soda.

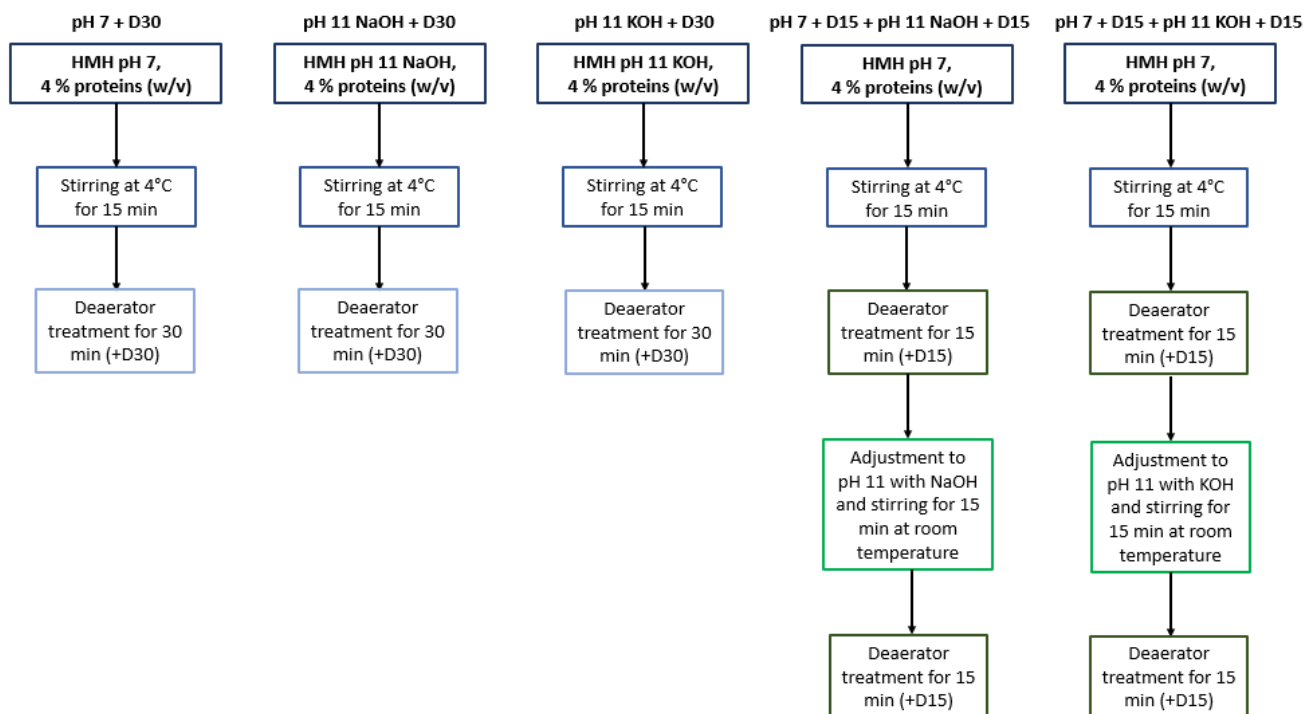


Figure 5-1. Summary of the experimental protocol

5.2.2.2. Analyses

5.2.2.2.1. Volatile Compound Analyses

5.2.2.2.1.1. DMA, TMA and TMAO

DMA, TMA and TMAO contents were determined according to Todeschini *et al.* (2020) with slight modifications [231]. Briefly, 2 mL of standards or samples were transferred into 20-mL vials and their pH was adjusted to pH 11 with 0.2 M or 6 M NaOH solutions in accordance with their initial pH. The DMA, TMA, TMAO contents were analyzed using headspace (HS) gas chromatography (GC) equipped with a nitrogen-phosphorus detector (NPD). Standards or samples were equilibrated for 10 min at 90°C in a 7697A headspace sampler (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) before being injected (1 mL) into a 7890B GC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) equipped with a NPD. Injection was conducted in split mode using a 1:5 ratio and an injector temperature of 250 °C. The loop and transfer line were, respectively, at 110 °C and 115 °C. Separation of volatile amines was performed on a capillary CP-Volamine column (30 m length x 0.32 mm id)

(Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Helium was used as the carrier gas at a constant flow rate of 3 mL/min. The detector temperature was at 300°C. GC oven temperature was increased from 50 °C (temperature maintained for 4 min) to 200°C at 25°C/min. Calibration curves of known amounts of DMA (from 1 ppm to 20 ppm), TMA (from 1 ppm to 10 ppm) and TMAO (from 10 ppm to 100 ppm) standards were used to determine the concentration of the three volatile amines in the different samples. Open Lab CDS EZChrom Software version A.03.02.023 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) was used to process the data.

5.2.2.2.1.2. Most Potent Odor-Active Compounds

A) Most Potent Odor-Active Compound Extraction

Volatile compounds were extracted in accordance with Tremblay *et al.* (2020) [113]. Summarily, 45 mL of liquid samples were absorbed by cotton balls. The soaked cotton balls were then placed into glass tubes connected to an air filtration system. Air circulated into glass tubes for 1h at room temperature to collect the volatile compounds on a divinylbenzene column (HayeSep® Q 80/100, Bandera, TX, USA). Then, volatile compounds were recovered from the divinylbenzene column with 150 µL of an elution solvent containing dichloromethane and nonyl acetate. Nonyl acetate was used as an internal standard (3.71×10^{-5} M). The resulting extracts were stored at -80°C before their analysis.

B) Most Potent Odor-Active Compound Determination

The most potent odor-active compound contents were determined using a gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) system consisting of a 7890B GC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) equipped with a 5977B mass selective detector (MSD) with a high efficiency source (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Extracts (1.8 µL) were analyzed according to Tremblay *et al.* (2020) [113]. Briefly, they were injected in splitless mode into a capillary column (DB-5MS Ultra Inert, 30 m length x 250 µm id, 1 µm thickness) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Helium was used as the carrier gas at a constant flow rate of 1.3 mL/min. The GC oven temperature was first increased from 35°C (temperature maintained for 1.46 min) to 47°C at 6°C/min and then increased to 250°C (temperature maintained for 3 min) at 10°C/min. The MSD source and the MSD quad were at 230°C and 150°C respectively. MSD operated at an ionization energy of 70 eV in the scan mode with a scan rate of 6.1 scans/min and a m/z range scanned between 30 and 250 atomic mass unit (a.m.u). Volatile compounds were identified by matching their mass spectra with those gathered in the NIST 17.L mass spectral database (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA). The area under each peak

corresponding to the compounds identified as being the most potent odor-active ones of HMH [231] was considered to assess their abundance in the different samples. MassHunter Qualitative Analysis software version B.07.00 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) was used to process the data.

5.2.2.2.2. Sensory Analysis

Sensory analysis was conducted to assess if differences identified by HS-GC-NPD and GC-MS analytical procedures could be perceived from an olfactory point of view. The procedure used for this purpose was similar to those described by Todeschini *et al.* (2021) [247]. Based on HS-GC-NPD and GC-MS results, five conditions including two conditions evidencing the lowest contents in the targeted volatile compounds, two conditions evidencing the highest contents and one intermediate were considered. A panel of twenty judges, composed of fifteen females and five males aged between 24 and 52 years old and selected in accordance with their availability and their motivation, participated in the sensory analysis session. None of them was experimented in sensory analysis procedure to be more representative of ordinary consumers. Sensory analysis was conducted at room temperature on 5-mL HMH samples in crucibles of 40 mL capacity after leaving a 4°C cold chamber. To prevent the loss of volatile compounds, crucibles were covered by plastic Petri dishes. Samples were placed in a random order and a three-digit code was ascribed to each of them. The sensory analysis procedure consisted in ranking the five selected conditions from the least to the most odorous one. Panel members were asked to gently remove the cover consisting in plastic Petri dishes to smell the headspace above the samples by normal breaths and to replace the cover right after. A final S score was attributed to each assessed condition (Equation 8) where S was obtained by summing all the rank values R_i given by each panel members [12].

$$S = \sum R_i \quad (8)$$

As a consequence, the condition perceived as being the least odorous by panel members will receive the lowest S score value while the most odorous will receive the highest S score value.

5.2.2.2.3. Antioxydant Activity

5.2.2.2.3.1. Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)

The ORAC test was conducted according to Tremblay *et al.* (2020) [113]. Briefly, standards and samples were mixed with sodium phosphate buffer prepared at a concentration of 75 mmol/L and a pH of 7.4. Trolox standards were used at concentrations of 12.5, 25, 50 and 100 μ M. Hydrolysate samples were assessed at concentrations of 0.5 and 1 mg/mL of peptides. 25 μ L of standards or

samples were transferred into a 96-well black microplate (GreinerBio-One GmbH, Frickenhausen, Germany) and mixed with 150 μL of a fluorescein solution at 0.4 μM . The microplate was preincubated for 30 min at 37 $^{\circ}\text{C}$ before the addition of 50 μL of AAPH to initiate the oxidation reaction. The fluorescence was measured with a Synergy H1 microplate reader (BioTek Instruments, Winooski, VT, USA) every 1 min for 90 min at 37 $^{\circ}\text{C}$ at an excitation wavelength of 485 nm and an emission one of 538 nm. Gen5 software version 2.07.17 (BioTek Instruments, Winooski, VT, USA) was used to process the data. Results were expressed as micromoles of Trolox equivalent per gram of peptides ($\mu\text{mol TE/g}$).

5.2.2.2.3.2. DPPH radical scavenging capacity

The DPPH radical scavenging capacity was assessed according to Tremblay *et al.* (2020) with slight modifications [113]. Briefly, standards and samples were prepared, respectively, in ethanol and ultrapure water. Trolox standards were used at concentrations ranging from 6.25 to 200 μM . Hydrolysate samples were assessed at concentrations of 0.5 and 1 mg/mL of peptides. 50 μL of standards or samples were transferred into a 96-well microplate (VWR, Montréal, QC, Canada) and mixed with 250 μL of DPPH solution at 90 μM prepared in ethanol. The microplate was incubated at 30 $^{\circ}\text{C}$ for 1h before the absorbance was measured at 517 nm using a microplate spectrophotometer (xMark™, Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA). Ethanol was used as a blank. The radical scavenging capacity of the samples was determined according to Equation 9.

$$\text{Scavenging capacity (\%)} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{control}}} \times 100 \quad (9)$$

where A_{control} and A_{sample} refer, respectively, to the absorbance of all reagents without the samples and the absorbance of the sample. MPM 6 software version 6.3 (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA) was used to process the data.

5.2.2.2.4. Statistical Analyses

Statistical analyses were conducted using SAS software version 9.4 for windows (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA). HS-GC-NPD, GC-MS and antioxidant data were subjected to one-way analyses of variance (ANOVA) and Tukey tests ($\alpha = 0.05$ as probability level) were conducted to compare the different conditions. t-test was carried out to compare the antioxidant activity within the same condition. Sensory analysis results were first analyzed with the non-parametric Friedman test to detect any difference between the tested conditions. Then, Wilcoxon test ($\alpha = 0.05$ as probability level) was used to compare the conditions two by two to identify those being different from the other ones.

5.3. Results and Discussion

5.3.1. Volatile Compound Analyses

5.3.1.1. DMA, TMA, TMAO

5.3.1.1.1. Effects of a 15-min Stirring

The DMA, TMA and TMAO contents of HMH solutions after the 15-min stirring step are shown in Table 5-1. Firstly, the detected content in DMA was significantly higher in the 15-min stirred HMH solution at pH 7 in comparison with the one at pH 11 alkalized with KOH ($p < 0.05$), while the detected content in DMA of the HMH solution at pH 11 alkalized with NaOH would be lower than those of the HMH solution at pH 7 but this was not confirmed by statistical analyses ($p > 0.05$). These results were not consistent with the ability of alkaline conditions to enhance the availability of DMA and, thus, to normally result in higher detected content [64,105]. Indeed, complex matrices, such as HMH, involve various compounds such as peptides, amino acids, lipids, nucleic acids. Among these compounds, peptides, amino acids and nucleic acids are able to interact with DMA through the establishment of electrostatic interactions. Under alkaline conditions, especially at pH 11, DMA was mainly present under a neutral form ($pK_a \sim 10.70$) [199]. This would considerably decrease its propensity to electrostatically interact with other compounds and would have resulted in its higher availability and, thus, higher detected content, independently of the use of NaOH or KOH for the alkalization procedure. To explain such discrepancy, it could be supposed that a certain part of the DMA content would have been lost during the 15-min stirring step of the HMH solutions at pH 11 due to the highly volatile state of this compound explaining that the expected pH effect was not observed. However, this explanation would not be totally in agreement with the study of Todeschini *et al.* (2021) in which it was reported that an overnight stirring of HMH solution under alkaline conditions, more precisely at pH 10, did not lead to any loss of DMA [247]. The fact that in this study, the stirring procedure was conducted at pH 11 and not at pH 10 may explain such differences. In any case, even by assuming that the hypothesis regarding the potential loss of DMA could be involved in the present case, it would not be sufficient to totally account for such results. This led to formulate a second hypothesis involving the occurrence of a potential trapping of DMA into peptide chains due to non-specific bindings at pH 11. In fact, both charge and peptide conformation are impacted by pH change and, as a consequence, the retention ability of volatile compounds, such as DMA, is impacted as well [140,151]. At that stage it is worth mentioning that the retention of volatile compounds by non-volatile ones can result either from specific bindings or non-specific ones. Specific bindings mean that interactions including hydrophobic and electrostatic

interactions, hydrogen bonds and Van der Waals forces in addition to covalent chemical ones can be involved [129,164]. Non-specific bindings are more related to the propensity of non-volatile compounds, such as peptides, to trap volatile ones into, for example, hydrophobic pockets, resulting from intramolecular interactions or into bigger structures resulting, for example, from peptide aggregation [133]. Since at pH 11 DMA was more released from electrostatic interactions and the expected pH effect was not observed, it could be supposed that a part of the DMA content would be involved in non-specific bindings to amino-acids-containing materials resulting from both intramolecular and intermolecular reorganization following the alkalization step rather than the involvement of specific bindings such as electrostatic interactions. Since DMA is a small molecule, with a molecular weight lower than 60 Da, the hypothesis involving its potential entrapment into peptide chains would be even more plausible. In addition, at pH 11, based on their pKa values, the N-term of peptides (pKa ~9.8) as well as the basic amino acids such as lysine (pKa ~10.5) and histidine (pKa ~6.0) were mainly present under a neutral form [221] leading to a decrease in the repulsive electrostatic forces between peptide chains resulting, thus, in their aggregation and possibly in their precipitation. Under these conditions, DMA could be easily trapped which would corroborate the aforementioned hypothesis. Nonetheless, it is of importance to note that no precipitation was observed by simple observation of the HMH solutions at pH 11. Besides, at that stage, it was important to note, as well, that the alkalization procedure was performed either with NaOH or with KOH being both alkaline salts. This means that the use of these species modified not only the pH of the HMH solutions but also their ionic strength. Indeed, similarly to pH, ionic strength is an important factor impacting the availability of volatile compounds and at high concentration of salts, a “salting in” effect was reported [149,164]. This means that at high ionic strength, the promoted interactions between amino-acids-containing materials due to lower availability of water molecules would, at the same time, enhance the retention of volatile compounds [164]. This would be in agreement with the hypothesis formulated previously regarding the retention of a certain part of the DMA content. However, even if 6 M NaOH and KOH were used for the alkalization procedure, this represented less than 1% (w/v) of salts added to the HMH solutions. This may not be sufficient enough to totally consider a potential “salting-in” effect due to the increase in the ionic strength. Concerning TMA, the 15-min stirred HMH solutions at pH 7 and pH 11 evidenced the same content ($p > 0.05$). Similarly to what was observed with regards to the DMA content, these results were not in line with the ability of alkaline conditions to improve the availability of TMA as well [64,105]. Indeed, such as DMA, TMA could electrostatically interact with charged compounds such as peptides, amino acids and nucleic acids. However, under alkaline conditions, TMA was mainly present under a neutral form (pKa ~9.80) [199] that would decrease its ability to electrostatically interact with other charged compounds. Therefore,

higher detected content in TMA would have been expected for HMH solutions at pH 11, independently of the use of NaOH or KOH for the alkalization procedure. The same hypotheses formulated previously for DMA could be considered for TMA as well. Finally, no TMAO was detected in the HMH solutions at pH 7 and pH 11. This was not in agreement with previous studies evidencing the presence of TMAO in HMH [231,247]. However, TMAO is a compound known to undergo breakdown reactions over time, even during frozen storage conditions [248,249]. More specifically, TMAO breakdown can be mainly achieved by bacterial or enzymatic reactions [13,248]. At frozen temperatures, the activity of microflora is reduced and enzymatic reactions account for being the main pathway of degradation of TMAO resulting in the generation of TMA and DMA in particular [13]. Therefore, it could be hypothesized that TMAO would have been decomposed during the frozen storage period before the treatments were conducted resulting in its no detection afterwards. Moreover, the fact that in the present study higher DMA and TMA contents were observed, in comparison with previous studies dealing with the same lot of HMH [231,247], would give credit to the latter hypothesis. Interestingly, both HMH solutions alkalized at pH 11 evidenced similar DMA and TMA contents independently of the use of NaOH and KOH. This suggests that NaOH and KOH bases would have, at that stage, the same effect on the studied compounds. Therefore, this may indicate that it could be possible to substitute NaOH by KOH to conduct the alkalization procedure. In fact, these bases only differ by the monovalent cation they release while they dissociate in solution. Indeed, the dissociation of NaOH leads to the generation of Na⁺ cation while those of KOH leads to the generation of K⁺ one. Interestingly, some studies already dealt with the impacts of both Na⁺ and K⁺ species resulting from the dissociation of NaCl and KCl salts, respectively, and noticed that these cations brought, globally, about the same effects on volatile compounds corroborating the results obtained in that case [162,164,250]. The fact that Na⁺ and K⁺ species were reported to evidence the same effects on volatile compounds would be related to their very close ranking in the Hofmeister series [164]. The Hofmeister series, also known as lyotropic series, refers to a classification of ionic species based on their ability to stabilize, or on the contrary, to destabilize, amino-acids-containing materials in solution [164,251]. As mentioned before, since amino-acids-containing materials have a huge ability to bind volatile compounds, their stability plays an important role on the availability of volatile compounds [140,151]. As a consequence, the behavior of volatile compounds is, generally, closely related to those of amino-acids-containing materials.

5.3.1.1.2. Effects of a Single 30-min Deaerator Treatment

The effect of a single 30-min deaerator treatment on the DMA, TMA and TMAO contents of HMH solutions at pH 7 and pH 11 was assessed (Table 5-1). Both the DMA and TMA contents of

the HMH solution at pH 7 (pH 7 + D30) were not impacted by the 30-min deaerator treatment ($p > 0.05$). These results were in line with previous studies reporting that deaerator treatment at neutral pH had no effect on these compounds due to their high propensity to be involved in electrostatic interactions hampering, thus, their removal [231,247]. Indeed, as mentioned previously, based on their pKa values of 10.70 and 9.80 respectively [199], DMA and TMA evidenced a positive charge at pH 7. Consequently, they were able to interact electrostatically with negatively charged compounds such as the C-term of peptides (pKa ~2.1) or the side-chains of aspartic and glutamic acids (pKa ~4.0) in both their bound or free states [223]. In addition, HMH contains nucleic acids carrying a negative charge due to the presence of phosphoric acid in its anion form, and both DMA and TMA could be involved, as well, in interactions with these compounds. Therefore, this seems to demonstrate that deaerator was not effective to break weak interactions such as electrostatic ones. Regarding the application of a 30-min deaerator treatment on HMH solutions at pH 11 previously alkalized with either NaOH (pH 11 NaOH + D30) or KOH (pH 11 KOH + D30), the detected DMA and TMA contents decreased in both cases ($p < 0.05$). This was in line with the ability of deaerator to remove gas and, at the same time, to take part in the removal of odorous compounds due to their volatile state. More precisely, in comparison with the 15-min stirred HMH solution alkalized with NaOH, the pH 11 NaOH + D30 one evidenced a decrease in DMA and TMA of 32 and 50%, respectively, while the pH 11 KOH + D30 HMH solution showed a decrease in DMA and TMA of 35 and 68%, respectively, compared to the 15-min stirred HMH solution alkalized with KOH. In that case, the high performance of deaerator to decrease the DMA and TMA contents at pH 11, on the contrary to what was observed at pH 7, could be explained by their lower involvement in electrostatic interactions with the aforementioned compounds since both DMA (pKa ~10.70) and TMA (pKa ~9.80) [199] were mainly present under a neutral form at pH 11 making their removal by the deaerator easier. In addition, based on what was hypothesized before regarding the potential of DMA and TMA to be trapped into peptide chains, the fact that deaerator treatment was able to decrease their contents at pH 11 would corroborate the occurrence of this phenomenon. Indeed, since deaerator was able to decrease the DMA and TMA contents, this may indicate that these two compounds were still present in HMH solutions at pH 11 otherwise the deaerator would not be effective to bring about their further removal. This may indicate, as well, that no weak interaction was definitely involved at pH 11 between DMA and TMA and the other constituents of HMH on the contrary to what was observed at pH 7 since the deaerator was ineffective to remove these two compounds under neutral condition. Interestingly, in comparison with the study of Todeschini *et al.* (2021) in which they conducted 30-min deaerator treatments on HMH solutions at pH 10, the fact to perform deaerator treatments on HMH solutions at pH 11 allowed an additional decrease in DMA of around 10 units of percentages [247]. Based on

what was mentioned before, this could be related to the fact that at pH 11 DMA ($pK_a \sim 10.70$) was not charged anymore, on the contrary to what happened at pH 10, that would make its removal easier by the deaerator. However, Todeschini *et al.* (2021) reported in these conditions a decrease of 80% in the TMA content [247]. In the present study, the decrease in the TMA content was slightly lower. On the whole, there was no significant difference in terms of DMA and TMA removal between deaerator treatments conducted at pH 10 or at pH 11. Based on this, it would not be totally justified to perform further experiments at pH value of 11. Moreover, in the present study, it would seem, at first glance, that the performance of a 30-min deaerator treatment would be enhanced while the alkalization procedure was conducted with KOH instead of NaOH. However, statistical analyses revealed no significant difference between the pH 11 NaOH + D30 and pH 11 KOH + D30 conditions. Therefore, this would corroborate the fact that both NaOH and KOH evidence the same effects on the DMA and TMA contents and that NaOH could be substituted by KOH without affecting the deaerator performance.

5.3.1.1.3. Effects of a Combination of 15-min Deaerator Treatments

In addition to single 30-min deaerator treatments, a combination of 15-min deaerator treatments at both pH 7 and pH 11 was assessed and the composition of the resulting HMH solutions is listed in Table 5-1. No difference was observed between the DMA and TMA contents of the 15-min stirred HMH solution at pH 7 and those treated by deaerator for 15 min (pH 7 + D15) ($p > 0.05$). These results were in agreement with what was already observed regarding the pH 7 + D30 condition and the same explanation could be applied. Then, while the pH 7 + D15 HMH solution underwent a further alkalization step to pH 11 with NaOH or KOH, the DMA content significantly decreased ($p < 0.05$) whereas the TMA one remained the same ($p > 0.05$). The same trend as those observed for the 15-min HMH solutions at pH 7 and pH 11 was obtained in that case and this seems to corroborate the explanation involved previously. In addition, this confirmed that the DMA and TMA contents were not affected by the base used for the alkalization procedure. Finally, while a 15-min deaerator treatment was conducted on the pH 7 + D15 + pH 11 NaOH HMH solution (pH 7 + D15 + pH 11 NaOH + D15), a drop in the DMA and TMA contents of respectively 36 and 68% were observed ($p < 0.05$). The same trend was observed for the pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15 condition. However, in that case, only the decrease in the TMA content was perceived as being significant by statistical analyses ($p < 0.05$). In addition, the DMA and TMA contents of both pH 7 + D15 + pH 11 NaOH + D15 and pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15 conditions were the same ($p > 0.05$). Similarly to what was observed for the pH 11 NaOH + D30 and pH 11 KOH + D30 conditions, this may indicate that the base used for the alkalization procedure had no effect on the deaerator performance and confirmed that the application of deaerator treatment under alkaline condition was an effective strategy to

decrease the DMA and TMA contents. Interestingly, the DMA and TMA contents of the pH 11 NaOH + D30 and pH 7 + D15 + pH 11 NaOH + D15 conditions, on the one hand, and of the pH 11 KOH + D30 and pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15 conditions, on the other hand, were similar ($p > 0.05$). As a consequence, from a practical point of view, the pH 11 NaOH + D30 and pH 11 KOH + D30 conditions seem to be more optimal since they only required an alkalization procedure followed by a single deaerator treatment. Besides, in terms of DMA and TMA removal performance, it seems that the single deaerator treatment duration could be reduced to 15 min instead of 30 min since the removal rate of these compounds were the same for single and combined treatments.

Table 5-1. DMA, TMA and TMAO contents of HMH (in part per million (ppm)) after the 15-min stirring and after the different treatments (mean \pm standard deviation)

	15-min Stirring			Single Deaerator Treatment			Combined Deaerator Treatments				
	pH 7	pH 11 NaOH	pH 11 KOH	pH 7 + D30	pH 11 NaOH + D30	pH 11 KOH + D30	pH 7 + D15	pH 7 + D15 + pH 11 NaOH	pH 7 + D15 + pH 11 NaOH + D15	pH 7 + D15 + pH 11 KOH	pH 7 + D15 + pH11 KOH + D15
DMA	21.22 \pm 1.95 ^{ab}	16.69 \pm 1.08 ^{bc}	14.29 \pm 0.66 ^{cde}	23.32 \pm 1.86 ^a	11.41 \pm 1.36 ^{def}	9.18 \pm 0.76 ^f	23.44 \pm 2.08 ^a	15.13 \pm 0.94 ^{cd}	9.65 \pm 0.34 ^{ef}	12.28 \pm 2.78 ^{cdef}	7.80 \pm 2.11 ^f
TMA	6.54 \pm 0.16 ^a	7.50 \pm 0.60 ^a	7.38 \pm 0.38 ^a	6.61 \pm 0.12 ^a	3.74 \pm 1.60 ^b	2.38 \pm 0.18 ^{bc}	6.61 \pm 0.40 ^a	6.99 \pm 0.25 ^a	2.24 \pm 0.51 ^{bc}	6.19 \pm 0.81 ^a	1.86 \pm 0.49 ^c
TMAO	< 2.50 ^a	< 2.50 ^a	< 2.50 ^a	< 2.50 ^a	< 2.50 ^a	< 2.50 ^a	< 2.50 ^a	< 2.50 ^a	< 2.50 ^a	< 2.50 ^a	< 2.50 ^a

Values within the same row with different letters (a-f) are significantly different $p < 0.05$ (Tukey Test)

5.3.1.2. Most Potent Odor-Active Compounds

5.3.1.2.1. Effects of a 15-min Stirring

The most potent odor-active compound contents of HMH solutions after the 15-min stirring step are shown in Table 5-2. First, the abundance of the targeted compounds was globally lower in the HMH solutions alkalinized at pH 11 with NaOH or KOH than in those at pH 7. More precisely, the contents in 3-methylbutanal, 1-methyl-1H-tetrazole, 2,3-pentanedione, pentanal, (Z)-4-heptenal, methional, benzaldehyde, (E,E)-2,4-heptadienal, octanal, 2-nonanone, (E,Z)-2,6-nonadienal were lower in the pH 11 HMH solution alkalinized with NaOH in comparison with the pH 7 one ($p < 0.05$). In addition to these compounds, the pH 11 HMH solution alkalinized with KOH evidenced as well a significant decrease in the abundance of 2-methylbutanal and hexanal compared to the pH 7 one ($p < 0.05$). As mentioned for DMA and TMA previously, this difference in terms of volatile compound contents was consistent with the ability of pH to impact their availability [129,148]. However, on the contrary to DMA and TMA, the global lower contents obtained for the HMH solutions at pH 11 were in line with what was already observed in the literature [231,247]. Recently, Todeschini *et al.* (2021) suggested that the observed decrease in the most potent odor-active compound contents of HMH solution observed under alkaline conditions could be related to a drop in their volatile state [247]. This would mean that the targeted compounds would still be present in the HMH solutions at basic pH. However, they would not be available anymore to be detected, probably involved in interactions with other compounds of HMH, explaining such lower abundances in comparison with HMH solution at pH 7. As mentioned previously, non-covalent bindings such as hydrophobic and electrostatic interactions, hydrogen bonds and Van der Waals forces as well as covalent chemical ones could be involved between volatile and non-volatile compounds [129,164]. Since in the present case, the observed decrease in the volatile compound contents was observed already after the 15-min stirring step, this may indicate that non-covalent bindings rather than covalent ones would be implied explaining such a decrease. Indeed, some studies reported that the establishment of covalent bindings between volatile compounds and amino-acids-containing ones, is time-dependent and 15 min would be too short to allow that type of bindings to be developed [236,252]. Moreover, except for hexanal for which a higher content was detected for the pH 11 HMH solution alkalinized with NaOH ($p < 0.05$), the two pH 11 HMH solutions had a similar composition. Similarly to what was reported for DMA and TMA contents, this suggests that NaOH and KOH would evidence the same effect on the most potent odor-active compounds of HMH as well and the same explanation could be involved.

5.3.1.2.2. Effects of a Single 30-min Deaerator Treatment

The most potent odor-active compound contents of HMM solutions produced over a single 30-min deaerator treatments are shown in Table 5-2. Firstly, concerning the deaerator treatment conducted on HMM solution at pH 7 (pH 7 + D30), a decrease from around 30 to 100% was observed for the following compounds in comparison with the pH 7 condition after the 15-min stirring ($p < 0.05$): 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, 1-methyl-1H-tetrazole, 2,3-pentanedione, pentanal, (Z)-4-heptenal, benzaldehyde, (Z)-6-octen-2-one, octanal, 2-nonanone, (E,Z)-2,6-nonadienal. The observed decrease was consistent with the ability of a deaerator to remove gas from a matrix and, thus, to bring about the removal of the odorous compounds as well due to their volatile state similarly to what was mentioned before. In addition, the observed decrease was of the same order as those mentioned by Todeschini *et al.* (2021) for similar treatment conditions [247]. Then, regarding the application of a 30-min deaerator treatment on HMM solution alkalized at pH 11 with NaOH (pH 11 NaOH + D30), no significant difference was observed in comparison with the HMM solution stirred for 15 min ($p > 0.05$). However, the abundance of 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, 2,3-pentanedione, pentanal, hexanal, (Z)-6-octen-2-one, octanal and 2-nonanone would decrease even if it was not confirmed by statistical analyses. Regarding the application of a 30-min deaerator treatment on a HMM solution alkalized to pH 11 with KOH (pH 11 KOH + D30), only 2-nonanone content dropped significantly in comparison with the HMM solution alkalized at pH 11 with KOH that was just stirred for 15 min ($p < 0.05$). Besides, even if it was not confirmed by statistical analyses, the content in 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, pentanal and (Z)-6-octen-2-one would decrease. Interestingly, the most potent odor-active compound contents of both pH 11 NaOH + D30 and pH 11 KOH + D30 were quite similar. On the one hand, this would corroborate what was observed previously concerning the similar composition of the HMM solutions alkalized to pH 11 with either NaOH or KOH just stirred for 15 min in terms of DMA, TMA and most potent odor-active compounds. On the other hand, this would indicate that the type of bases used did not impact the performance of the deaerator, even for the most potent odor-active compounds, as the treatment was ineffective in both cases. Moreover, the ineffectiveness of the deaerator at pH 11 would give credit to the fact that under alkaline conditions, the targeted volatile compounds would, potentially, be involved in non-covalent bindings with other constituents of HMM. Indeed, while volatile compounds are involved in interactions, they are not available anymore and this could explain the reason why they would not be as easily removed at pH 11 as they were at pH 7. It was not the first time that the ineffectiveness of the deaerator to remove the most potent odor-active compounds of HMM under alkaline conditions was mentioned since Todeschini *et al.* (2020; 2021) reported this in their studies as well [231,247]. Moreover, as observed previously at pH 11, the deaerator was still effective to reduce the DMA and TMA contents in spite

of their potential trapping into peptide chains. Thus, this seems to indicate that two different mechanisms would be involved for the most potent odor-active compounds and for DMA and TMA under alkaline conditions. To better characterize the mechanism responsible for the observed decrease in the abundance of the most potent odor-active compounds of HMH, an additional acidification to pH 7 was performed following the 30-min deaerator treatments on pH 11 NaOH (pH 11 NaOH + D30 + pH 7) and pH 11 KOH HMH (pH 11 KOH + D30 + pH 7) solutions and results are indicated in Table 5-2. Interestingly, the further adjustment to pH 7 led to the significant increase in 2-methylbutanal, 2,3-pentanedione, pentanal, (Z)-4-heptenal, methional, benzaldehyde, octanal and (E,Z)-2,6-nonadienal contents of pH 11 NaOH + D30 + pH 7 solution in comparison with the pH 11 NaOH + D30 one ($p < 0.05$). A similar trend was observed for the pH 11 KOH + D30 + pH 7 solution that evidenced a further increase in the 2,3-pentanedione, methional, benzaldehyde, (E,E)-2,4-heptadienal, (E,Z)-2,6-nonadienal contents compared to the pH 11 KOH + D30 solution ($p < 0.05$). This would even more corroborate the hypothesis that the most potent-odor active compounds of HMH would be involved in non-covalent bindings at basic pH and would be released from these interactions under neutral conditions. On the one hand, the potential involvement in non-covalent bindings of the targeted compounds at alkaline pH values would confirm the reason why their abundances were lower under these conditions. In addition, this would give credit to the ineffectiveness of the deaerator to break weak interactions. At that stage, the involvement of covalent bindings was definitely excluded as this type of bindings is an irreversible one. This means that if the most potent odor-active compounds of HMH would effectively be involved in covalent bindings, their release from these bindings would have not been possible by a simple further acidification step. On the other hand, the better availability of these compounds at neutral pH would, finally, explain the reason why the deaerator was more effective to remove them under these conditions.

5.3.1.2.3. Effects of a Combination of 15-min Deaerator Treatments

The 15-min deaerator treatment conducted on HMH solution at pH 7 (pH 7 + D15) allowed a decrease in the abundance of 2-methylbutanal, 2,3-pentanedione and (Z)-4-heptenal in comparison with the pH 7 solution stirred for 15-min ($p < 0.05$) (Table 5-2). Even if it was not perceived in terms of statistical differences, the abundance of 3-methylbutanal, pentanal, hexanal, benzaldehyde, (Z)-6-octen-2-one and 2-nonanone would decrease after the 15-min deaerator treatment as well. It is of interest to note that the pH 7 + D30 condition evidenced lower contents in the targeted compounds. This may indicate that the treatment duration would have a significant effect on the removal rate of volatile compounds and, thus, on the process performance. Interestingly, the importance of the treatment duration was not perceived for DMA and TMA since the 15-min deaerator treatment

removed as much DMA and TMA as the 30-min one. The fact that DMA and TMA are small molecules whose molecular weight is inferior to 60 Da makes them probably easier to remove by the deaerator than the most potent odor-active ones. In addition, while the pH 7 + D15 HMH solution was then alkalized to pH 11 with NaOH (pH 7 + D15 + pH 11 NaOH), a further significant drop in the 3-methylbutanal, 1-methyl-1H-tetrazole, 2,3-pentanedione, pentanal, hexanal, (Z)-4-heptenal, heptanal, methional, benzaldehyde, (E,E)-2,4-heptadienal, octanal, (E,Z)-2,6-nonadienal contents was observed in comparison with the pH 7 + D15 condition ($p < 0.05$). All these compounds followed a similar decrease for the pH 7 + D15 HMH solution alkalized afterwards with KOH (pH 7 + D15 + pH 11 KOH) ($p < 0.05$) compared to the pH 7 + D15 condition except for hexanal ($p > 0.05$). This was consistent with what was observed previously regarding the global lower volatile compound contents of alkalized solutions, independently of the use of NaOH or KOH, in comparison with neutral one. Interestingly, in comparison with the pH 11 HMH solution alkalized with NaOH and just stirred for 15 min, the pH 7 + D15 + pH 11 NaOH one evidenced significant lower contents in 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, hexanal and 2-nonanone ($p < 0.05$) as well as a downward trend for the 2,3-pentanedione, pentanal, (Z)-4-heptenal, heptanal, (Z)-6-octen-2-one and octanal contents despite the fact that it was not perceived in terms of statistical differences ($p > 0.05$). For the pH 7 + D15 + pH 11 KOH condition, only a downward trend was observed regarding the 2-nonanone content in comparison with the 15-min stirred HMH solution alkalized at pH 11 with KOH. As observed previously, the deaerator appears to be more effective at pH 7 while the simple fact to alkalize a HMH solution led, as well, to reduce the abundance of the targeted compounds. Thus, in the case of the pH 7 + D15 + pH 11 NaOH, more specifically, the higher decrease in the volatile compound contents would probably be related to the combination of the high performance of both the deaerator treatment at pH 7 and the further alkalization. This high performance of the combination of both alkaline pH and deaerator treatment at pH 7 was even visible while comparing, on the one hand, the pH 7 + D30 and pH 7 + D15 + pH 11 NaOH conditions and, on the other hand, the pH 7 + D30 and pH 7 + D15 + pH 11 KOH conditions. Indeed, compared to the pH 7 + D30 condition, the pH 7 + D15 + pH 11 NaOH one evidenced lower 2,3-pentanedione, pentanal, hexanal, heptanal, methional, (E,E)-2,4-heptadienal, octanal and (E,Z)-2,6-nonadienal contents ($p < 0.05$) while the pH 7 + D15 + pH 11 KOH involved lower 2,3-pentanedione, methional, (E,E)-2,4-heptadienal, octanal, (E,Z)-2,6-nonadienal contents ($p < 0.05$). If a single 15-min deaerator treatment at pH 7 was less optimal than a single 30-min one for the removal of the most potent odor-active compounds of HMH, the simple fact of conducting after the 15-min deaerator treatment a further alkalization step to pH 11 enhanced its performance. Indeed, the 15-min deaerator treatment at pH 7 led to a first decrease in the abundance of the most potent odor-active compounds due to their better availability under neutral pH

that makes their removal by the deaerator easier. Then, the next alkalization step to pH 11 led to a further decrease in the content of these compounds due, in that case, to their involvement in weak interactions with other constituents of HMH. Finally, while the pH 7 + D15 + pH 11 NaOH condition and the pH 7 + D15 + pH 11 KOH one followed a 15-min deaerator treatment (pH 7 + D15 + pH 11 NaOH + D15; pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15), no further decrease in the targeted compounds was observed in both cases ($p > 0.05$). As mentioned before, this corroborated the ineffectiveness of the deaerator to reduce the most potent odor-active compound contents of HMH under alkaline conditions due to their involvement in weak interactions with other components of HMH.

Table 5-2. Abundance of the most potent odor-active compounds of HMH ($\times 107$ Arbitrary Unit (U.A.)) after the 15-min stirring and after the different treatments (mean \pm standard deviation)

	15-min Stirring				Single Deaerator Treatment				Combined Deaerator Treatments				
	pH 7	pH 11 NaOH	pH 11 KOH	pH 7 + D30	pH 11 NaOH + D30	pH 11 NaOH + D30 + pH 7	pH 11 KOH + D30	pH 11 KOH + D30 + pH 7	pH 7 + D15	pH 7 + D15 + pH 11 NaOH	pH 7 + D15 + pH 11 NaOH + D15	pH 7 + D15 + pH 11 KOH	pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15
3-Methylbutanal	7.72 \pm 0.53 ^a	5.50 \pm 0.08 ^{bcd}	3.99 \pm 0.61 ^{de}	4.47 \pm 0.30 ^{cde}	4.88 \pm 0.54 ^{bcd}	5.71 \pm 0.52 ^{bc}	3.76 \pm 0.22 ^e	3.61 \pm 0.42 ^e	6.32 \pm 0.65 ^{ab}	3.56 \pm 0.40 ^e	3.50 \pm 0.70 ^e	4.62 \pm 0.09 ^{cde}	3.88 \pm 0.88 ^e
2-Methylbutanal	4.07 \pm 0.24 ^a	3.33 \pm 0.09 ^{ab}	2.24 \pm 0.44 ^{bcd}	1.35 \pm 0.19 ^{de}	2.64 \pm 0.45 ^{bcd}	2.96 \pm 0.74 ^{abc}	1.93 \pm 0.43 ^{cde}	1.41 \pm 0.32 ^{de}	2.47 \pm 0.89 ^{bcd}	1.17 \pm 0.37 ^e	1.37 \pm 0.33 ^{de}	2.22 \pm 0.35 ^{bcd}	1.56 \pm 0.37 ^{de}
1-Methyl-1H-tetrazole	4.66 \pm 1.06 ^a	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	3.14 \pm 2.73 ^a	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b	0.00 \pm 0.00 ^b
2,3-Pentanedione	2.70 \pm 0.31 ^a	0.18 \pm 0.07 ^{cd}	0.13 \pm 0.09 ^f	1.18 \pm 0.29 ^c	0.071 \pm 0.032 ^f	1.00 \pm 0.07 ^{cd}	0.069 \pm 0.017 ^f	0.59 \pm 0.03 ^{de}	2.21 \pm 0.33 ^b	0.066 \pm 0.047 ^f	0.078 \pm 0.025 ^f	0.12 \pm 0.02 ^f	0.077 \pm 0.013 ^f
Pentanal	4.33 \pm 0.47 ^a	2.06 \pm 0.15 ^{cde}	1.33 \pm 0.28 ^{de}	2.31 \pm 0.52 ^{bcd}	1.40 \pm 0.20 ^{de}	2.71 \pm 0.39 ^{bc}	1.10 \pm 0.07 ^e	1.77 \pm 0.43 ^{cde}	3.28 \pm 0.69 ^{ab}	1.00 \pm 0.27 ^e	1.04 \pm 0.27 ^e	1.82 \pm 0.09 ^{cde}	1.30 \pm 0.42 ^{de}
Hexanal	5.66 \pm 0.85 ^a	5.24 \pm 0.65 ^a	2.79 \pm 0.40 ^{bcd}	5.32 \pm 0.64 ^a	4.07 \pm 1.53 ^{abc}	4.76 \pm 0.33 ^{ab}	3.50 \pm 0.42 ^{abcd}	3.63 \pm 0.39 ^{abcd}	4.70 \pm 0.67 ^{ab}	1.77 \pm 0.29 ^d	2.15 \pm 0.92 ^{cd}	5.30 \pm 0.25 ^a	4.67 \pm 1.20 ^{ab}
(Z)-4-Heptenal	8.80 \pm 1.41 ^a	1.87 \pm 0.22 ^{de}	1.99 \pm 0.41 ^{de}	2.57 \pm 0.21 ^{de}	1.91 \pm 0.53 ^{de}	5.29 \pm 0.22 ^{bc}	1.77 \pm 0.08 ^{de}	3.93 \pm 0.83 ^{cd}	6.60 \pm 1.73 ^b	1.69 \pm 0.33 ^e	1.57 \pm 0.50 ^e	1.83 \pm 0.34 ^{de}	1.55 \pm 0.45 ^e
Heptanal	0.83 \pm 0.36 ^{abc}	0.46 \pm 0.05 ^{bc}	0.41 \pm 0.11 ^{bc}	1.04 \pm 0.20 ^{ab}	0.32 \pm 0.14 ^{bc}	1.02 \pm 0.15 ^{ab}	0.34 \pm 0.04 ^{bc}	0.80 \pm 0.25 ^{bc}	1.62 \pm 0.78 ^a	0.18 \pm 0.03 ^c	0.18 \pm 0.05 ^c	0.41 \pm 0.06 ^{bc}	0.45 \pm 0.13 ^{bc}
Methional	0.053 \pm 0.018 ^b	0.00 \pm 0.00 ^c	0.00 \pm 0.00 ^c	0.041 \pm 0.005 ^b	0.00 \pm 0.00 ^c	0.083 \pm 0.017 ^a	0.00 \pm 0.00 ^c	0.050 \pm 0.009 ^b	0.041 \pm 0.007 ^b	0.00 \pm 0.00 ^c	0.00 \pm 0.00 ^c	0.00 \pm 0.00 ^c	0.00 \pm 0.00 ^c
Benzaldehyde	8.03 \pm 0.61 ^a	2.27 \pm 0.13 ^c	2.15 \pm 0.28 ^c	2.14 \pm 0.22 ^c	2.24 \pm 0.73 ^c	7.71 \pm 0.20 ^{ab}	2.67 \pm 0.21 ^c	5.91 \pm 0.56 ^b	6.29 \pm 1.93 ^{ab}	1.73 \pm 0.23 ^c	1.65 \pm 0.40 ^e	2.32 \pm 0.24 ^c	1.91 \pm 0.28 ^c
(Z)-6-Octen-2-one	1.83 \pm 0.62 ^a	1.54 \pm 0.19 ^{ab}	1.28 \pm 0.17 ^{abc}	0.133 \pm 0.008 ^d	0.93 \pm 0.46 ^{abcd}	0.63 \pm 0.40 ^{bcd}	0.61 \pm 0.08 ^{bcd}	0.14 \pm 0.06 ^d	1.04 \pm 0.56 ^{abcd}	1.05 \pm 0.14 ^{abcd}	0.73 \pm 0.19 ^{bcd}	1.24 \pm 0.30 ^{abc}	0.58 \pm 0.12 ^{cd}
(E,E)-2,4-Heptadienal	0.68 \pm 0.17 ^a	0.016 \pm 0.005 ^b	0.044 \pm 0.035 ^b	0.56 \pm 0.11 ^a	0.041 \pm 0.006 ^b	0.46 \pm 0.11 ^{ab}	0.029 \pm 0.017 ^b	0.67 \pm 0.57 ^a	0.77 \pm 0.03 ^a	0.019 \pm 0.004 ^b	0.039 \pm 0.002 ^b	0.037 \pm 0.028 ^b	0.032 \pm 0.003 ^b
Octanal	1.80 \pm 0.19 ^a	0.60 \pm 0.03 ^{cd}	0.49 \pm 0.11 ^d	1.27 \pm 0.27 ^b	0.46 \pm 0.22 ^d	1.21 \pm 0.08 ^b	0.53 \pm 0.04 ^{cd}	0.94 \pm 0.07 ^{bc}	1.91 \pm 0.22 ^a	0.39 \pm 0.05 ^d	0.47 \pm 0.15 ^d	0.68 \pm 0.03 ^{cd}	0.51 \pm 0.15 ^{cd}
2-Nonanone	1.27 \pm 0.08 ^a	1.05 \pm 0.12 ^{ab}	0.89 \pm 0.17 ^{abc}	0.12 \pm 0.02 ^e	0.54 \pm 0.37 ^{bcd}	0.53 \pm 0.32 ^{bcd}	0.255 \pm 0.008 ^{de}	0.13 \pm 0.03 ^e	0.83 \pm 0.43 ^{abcd}	0.40 \pm 0.04 ^{cde}	0.21 \pm 0.07 ^e	0.68 \pm 0.18 ^{bcd}	0.21 \pm 0.05 ^e
(E,Z)-2,6-Nonadienal	0.85 \pm 0.09 ^a	0.049 \pm 0.006 ^d	0.050 \pm 0.012 ^d	0.61 \pm 0.09 ^b	0.061 \pm 0.037 ^d	0.77 \pm 0.10 ^{ab}	0.054 \pm 0.003 ^d	0.42 \pm 0.05 ^c	0.91 \pm 0.08 ^a	0.055 \pm 0.018 ^d	0.053 \pm 0.014 ^d	0.061 \pm 0.011 ^d	0.065 \pm 0.020 ^d

Values within the same row with different letters (a-f) are significantly different $p < 0.05$ (Tukey Test)

5.3.1.3. General Discussion on Volatile Compounds

The results obtained demonstrated that the application of pH 7 + D15 + pH 11 NaOH + D15, pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15, pH 11 NaOH + D30 and pH 11 KOH + D30 were the most effective to reduce the DMA and TMA contents. Regarding the most potent odor-active compounds of HMH, the application of pH 7 + D15 + pH 11 NaOH and pH 7 + D15 + pH 11 KOH could be considered as optimal ones to decrease their content by combining the high performance of the deaerator treatment conducted at pH 7 and the ability of alkaline conditions to further reduce their availability. Nonetheless, to guarantee a high deodorization degree of HMH, both the amine compounds and the most potent odor-active ones should be taken into account during the process. Consequently, the optimal conditions appear to be the pH 7 + D15 + pH 11 NaOH + D15 and the pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15 ones since they targeted the two types of odorous compounds. In addition, as results showed that the content in DMA, TMA and those in the most potent odor-active compounds were not impacted by the base used, the pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15 condition could definitely be considered as the best avenue for HMH deodorization.

In terms of TMA and DMA removal, the pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15 condition led to a decrease in the two amines of 70% in contrast to the pH 7 HMH solution just stirred. In comparison with other deodorization strategies, this is the first time, to the best of our knowledge, that a deodorization method applied to a marine resource allowed such a decrease in the DMA and TMA contents simultaneously since the other strategies mainly focus on TMA removal. In terms of TMA removal, the efficiency of the treatment developed in that case seems to be higher than those reported in the literature. Indeed, Park *et al.* (2020) observed that lactic acid bacteria were able to remove up to 62% of the TMA content of spoiled fish [179] while Jo *et al.* (2021) rather identified the use of such microorganisms as a strategy to prevent the formation of TMA in ribbonfish fillets [253]. Similarly, the use of tea polyphenols in clam hydrolysate was identified as a strategy to prevent the formation of TMA rather than a strategy to remove it once formed [12]. Finally, with a physical method based on activated carbon adsorption, Boraphech and Thiravetyan (2015) reached a TMA removal rate similar to those obtained in the case of this study. However, in that case, experiments were conducted on pure solution of TMA [235]. Therefore, this would demonstrate the high potential of the deodorization method developed in this study to be applied to complex matrices such as HMH. Moreover, in terms of most potent odor-active compound removal, while comparing with other deodorization strategies reported in the literature, the pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15 condition appeared to be of higher performance again. In fact, the use of tea polyphenols only allowed to decrease by, respectively, 19% and 25% the benzaldehyde and heptanal contents of a clam hydrolysate [12] while the application of the pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15 condition removed, respectively, 76% and 46% of the benzaldehyde and heptanal contents of HMH. Song *et al.* (2018) noticed that tea polyphenols had almost no effect on the benzaldehyde content of fish oil whereas they reached a removal rate of 27% for the 2-nonanone content [87]. In this study, the pH 7

+ D15 + pH 11 KOH + D15 reduced the 2-nonanone content by 83%. Regarding physical method such as the use of activated carbon, Li et al. (2020) removed respectively 31% and 36% of the benzaldehyde and octanal contents of a fish hydrolysate [178] while in this study octanal was removed at 72%. With activated carbon, Chen *et al.* (2016) managed to remove 58% of pentanal of a clam hydrolysate [12] while in this study 70% of this compound was removed. With another adsorption method based on the use of zeolite, Güner *et al.* (2019) removed 60% of the (E,E)-2,4-heptadienal of fish oil while the pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15 condition managed to remove almost 100% of the (E,E)-2,4-heptadienal content of HMH. Therefore, these results definitely showed the high performance of the combination of deaerator treatments to be used for the deodorization of complex matrices such as HMH.

5.3.2. Sensory Analysis

Sensory analysis was conducted to assess if results obtained by HS-GC-NPD and GC-MS procedures could be corroborated by human perception. The five conditions subjected to sensory analysis were the following: pH 7 after 15-min stirring, pH 7 + D30, pH 11 KOH after 15-min stirring, pH 11 KOH + D30 and pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15. The odorous S scores ascribed by the panel members for these conditions are presented in Table 5-3. Results indicated that the pH 7 after 15-min stirring and pH 7 + D30 conditions were perceived as being the most odorous ones in comparison with the other assessed conditions ($p < 0.05$). Regarding the pH 7 after 15-min stirring condition, this was in line with both HS-GC-NPD and GC-MS results. Indeed, this condition evidenced the highest content in the most potent odor-active compounds as well as the highest content in TMA and DMA. On the one hand, among the most potent odor-active compounds of HMH, pentanal, hexanal, (Z)-4-heptenal, heptanal, (E,E)-2,4-heptadienal and octanal are associated to unappealing odor descriptors. Indeed, hexanal, (Z)-4-heptenal, heptanal, (E,E)-2,4-heptadienal and octanal are responsible for fishy smell while pentanal is characterized by a pungent odor [62,126,254]. On the other hand, both TMA and DMA are ascribed to fishy and ammoniacal odor descriptors [13,62,105]. Therefore, this may explain the reason why the panel members ascribed the highest S score value to the pH 7 after 15-min stirring condition. Surprisingly, panel members were not able to discriminate the pH 7 after 15-min stirring and pH 7 + D30 conditions ($p > 0.05$). This was not totally in accordance with GC-MS results indicating a lower content in the most potent odor-active compounds of HMH after the 30-min deaerator treatment. However, the fact that the pH 7 + D30 and the pH 7 after 15-min stirring conditions showed a similar content in TMA and DMA could explain the reason why they were identified as being the two most odorous conditions. In addition, the pH 11 KOH after 15-min stirring, pH 11 KOH + D30 and pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15 conditions were all perceived as being the least odorous ones by the panel members in comparison with the conditions at pH 7 ($p < 0.05$). These results were in agreement with the GC-MS results indicating a lower content in the most potent odor-active compounds at pH 11 than at pH 7 due to their involvement in weak interactions. Interestingly, among the most potent odor-active

compounds whose contents were lower at pH 11, (E,E)-2,4-heptadienal and (E,Z)-2,6-nonadienal were reported to evidence synergistic effect [239]. In fact, while these compounds are present together, (E,Z)-2,6-nonadienal, initially ascribed to a pleasant cucumber-like smell [125], promotes the fishy off-flavors of (E,E)-2,4-heptadienal [239]. Synergistic effects between (Z)-4-heptenal and other odorous compounds were reported in the literature as well. Indeed, (Z)-4-heptenal has the capacity to give potency to the odor of other compounds rather than making a huge contribution to the global odor of a matrix on its own [125,239]. Therefore, the lower content in especially (E,E)-2,4-heptadienal, (E,Z)-2,6-nonadienal and (Z)-4-heptenal of the conditions at pH 11 could also account for the lowest S scores they received. At that stage, it is worth mentioning that other synergistic effects may occur between the targeted odorous compounds of HMH. Nonetheless, only few data are available in the literature regarding the effects of the combinations of odorous compounds. Surprisingly, panel members did not discriminate the conditions at pH 11 ($p > 0.05$). Since all the conditions assessed at pH 11 showed a similar content in the most potent odor-active compounds, this was quite logical. However, the pH 11 KOH + D30 and pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15 conditions had a lower content in both TMA and DMA in comparison with the pH 11 KOH after 15-min stirring conditions and this should have been perceived. However, the fact that the conditions at pH 11 evidenced a high performance to decrease the availability of the most potent odor-active compounds could account for the least contribution of TMA and DMA on the resulting odor of HMH. This could be corroborated by the fact that (Z)-4-heptenal, as mentioned before, could give potency to the odor of other compounds and at pH 11, the content of this latter was lower.

As a whole, sensory analysis results confirmed previous results obtained by the analytical procedures and indicated that conditions at pH 11 were perceived as the least odorous ones. In addition, it appears, based on these results, that the tendency of basic conditions to reduce the availability of the most potent odor-active compounds of HMH is prevalent on the olfactory perception of this latter. At that stage, it is of importance to mention that in a deodorization context, the optimal condition would be to reduce the content in the targeted compounds by removing them totally instead of just making them unavailable through the establishment of non-covalent bindings. This would be even more necessary for a product that could be consumed such as HMH already used as a food supplement to avoid the uncontrolled and undesired release of odorous compounds. Indeed, consumption of food is a complex process composed of various steps [255]. The first one is the mastication bringing about the decomposition of the food product into fragments. At that stage, a release of volatile compounds could happen due to changes in food structure caused by the mastication process and the contribution of saliva present in the mouth [256,257]. Indeed, regarding saliva more precisely, this latter has a normal pH value ranging from 6.2 to 7.4 [258]. Since it was shown, in this study, that the most potent odor-active compounds tended to be more released under neutral conditions, the consumption of deodorized HMH at pH 11 could be potentially associated with the release of these compounds into the mouth cavity. For

this reason, the application of the pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15 appears to be definitely the best option since, as mentioned before, it allows a first step of removal of the most potent odor-active compounds of HMH by deaerator in contrast to the other pH 11 KOH after 15-min stirring and pH 11 KOH + D30 conditions. Then, while the food product goes deeper into the human organism, the change in pH condition would probably lead, as well, to the potential release of volatile compounds. As a consequence, for further studies, it would be of particular interest to deepen the knowledge regarding the potential release of the targeted compounds during consumption. This could be achieved through either continuous *in vivo* methods or discontinuous *in vivo* ones [255]. On the one hand, continuous *in vivo* methods, such as atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry (API-MS) or proton transfer reaction mass spectrometry (PTR-MS), allow a real-time monitoring of the release of volatile compounds directly from the air exhaled from the retronasal pathway of human subjects during food consumption [255,259]. On the other hand, discontinuous ones, such as the retronasal aroma-trapping device (RATD), are based on the trapping of volatile compounds released from the air exhaled from the retronasal pathway on an adsorbent material before their analysis by GC-MS [260].

Table 5-3. *S* scores given by the panel members to the five conditions subjected to sensory analysis

	pH 7 after 15-min stirring	pH 7 + D30	pH 11 KOH after 15-min stirring	pH 11 KOH + D30	pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15
S scores	88.0 ^a	75.0 ^a	51.0 ^b	43.0 ^b	43.0 ^b

Values within the same row with different letters (a-b) are significantly different $p < 0.05$ (Wilcoxon test)

5.3.3. Antioxidant Activity

5.3.3.1. ORAC

The antioxidant activity of fish hydrolysates could be ascribed to different mechanisms. For this reason, it is of importance to use at least two different tests based on different mechanisms to get a better insight [261]. In that case, ORAC test was first used to assess the antioxidant potential of the studied HMH as well as the impact of the different conditions on this latter. The ORAC test is based on the prevention of the degradation of a fluorescein probe by the scavenging of peroxy radicals originating from AAPH. This scavenging results in a limited loss of fluorescence [113]. Results (Figure 5-2) showed that, globally, all the tested conditions evidenced a similar antioxidant activity for a given concentration ($p > 0.05$). Indeed, at a concentration of 0.5 mg/mL of peptides, all the tested conditions presented an average antioxidant activity of 310 $\mu\text{mol TE/g}$ while at a concentration of 1.0 mg/mL of peptides, an average antioxidant activity of 245 $\mu\text{mol TE/g}$ was obtained. Statistical analyses may suggest that the antioxidant activity of the HMH solution produced over the application of the pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15 condition would be lower than those of the other conditions for the two tested concentrations ($p < 0.05$). However, since the antioxidant activities reported for this condition remained of the same order

as those of the other conditions, the detected differences, in that case, could be considered as minor. Globally, these results seem to indicate that neither the application of a deaerator treatment nor the different tested pH values had an impact on the antioxidant potential of HMH independently of the use of NaOH or KOH with regards to the conditions at basic pH. Therefore, this may suggest that it could be possible to deodorize HMH without affecting its bioactive potential. This means that the volatile compounds targeted in this study would evidence no antioxidant activity. In fact, in the literature, volatile compounds described as having antioxidant potential include mainly terpenes and sulfur-containing compounds [262–264] and, in the present case, none of the targeted odorous compounds belonged to these groups except for methional being a sulfur-containing compound. However, the fact that its antioxidant potential was not observed in this study could be explained either by the fact that its abundance was too low, even in the untreated HMH, or that potential inhibitors could be present hindering any antioxidant activity. At that stage, it is worth mentioning that the antioxidant properties of fish hydrolysates are mainly ascribed to the bioactive peptides they could contain [240]. Generally, the antioxidant properties of such compounds are influenced by their amino acid sequence and composition in addition to their degree of hydrophobicity [265,266]. Since the deaerator treatment had no effect on these parameters, this could explain the reason why all the conditions tested in this study evidenced a similar antioxidant activity. Nonetheless, the fact that pH had no impact was more surprising. Indeed, pH influences the global charge of peptides and it was reported that basic peptides had greater antioxidant capacity with regards to acidic or neutral ones [265]. The fact that no pH effect was observed in the present case would be due to the discrepancy between the methods used in this study in comparison with those reported in the literature to assess the antioxidant properties since they could be based on different mechanisms. Besides, for most of the tested conditions, the higher antioxidant activity was obtained at 0.5 rather than 1.0 mg/mL of peptides ($p > 0.05$). This may be explained by the fact that ORAC assay is known for being highly sensitive and samples should be sufficiently diluted to avoid interferences [267]. Therefore, the lower antioxidant activity observed at 1.0 mg/mL might be due to the potential occurrence of interferences due to the higher concentration assessed in that case. Interestingly, in their study, Durand *et al.* (2019) reported a similar antioxidant of $218.32 \pm 8.91 \mu\text{mol TE/g}$ for a HMH with a composition very close to those studied in the present case [7]. In addition, the ORAC values obtained for the studied HMH were comparable to those of other fish protein hydrolysates such as Pacific Hake protein hydrolysates for which ORAC values ranging from 225 to 330 $\mu\text{mol TE/g}$ were observed [268,269]. Other fish protein hydrolysates such as those originating from cod bones mince or salmon frames were reported in the literature to have higher antioxidant activity with ORAC values ranging respectively from 435 to 528 $\mu\text{mol TE/g}$ and from 544 to 840 $\mu\text{mol TE/g}$ [37,270]. Nevertheless, in that case, the studied hydrolysates contained higher contents in purified peptides than those in the present study explaining, thus, such higher ORAC values [37,270]. Interestingly, Durand *et al.* (2019) reported in a similar manner that the antioxidant potential of HMH could be enhanced by almost three times following a purification step since they managed to

isolate from the initial HMH a fraction having an antioxidant activity of almost 700 $\mu\text{mol TE/g}$ [7]. As a whole, these results seem to demonstrate that the deodorization method developed in this study did not affect the antioxidant activity of HMH and would confirm its huge potential to be used a new ingredient.

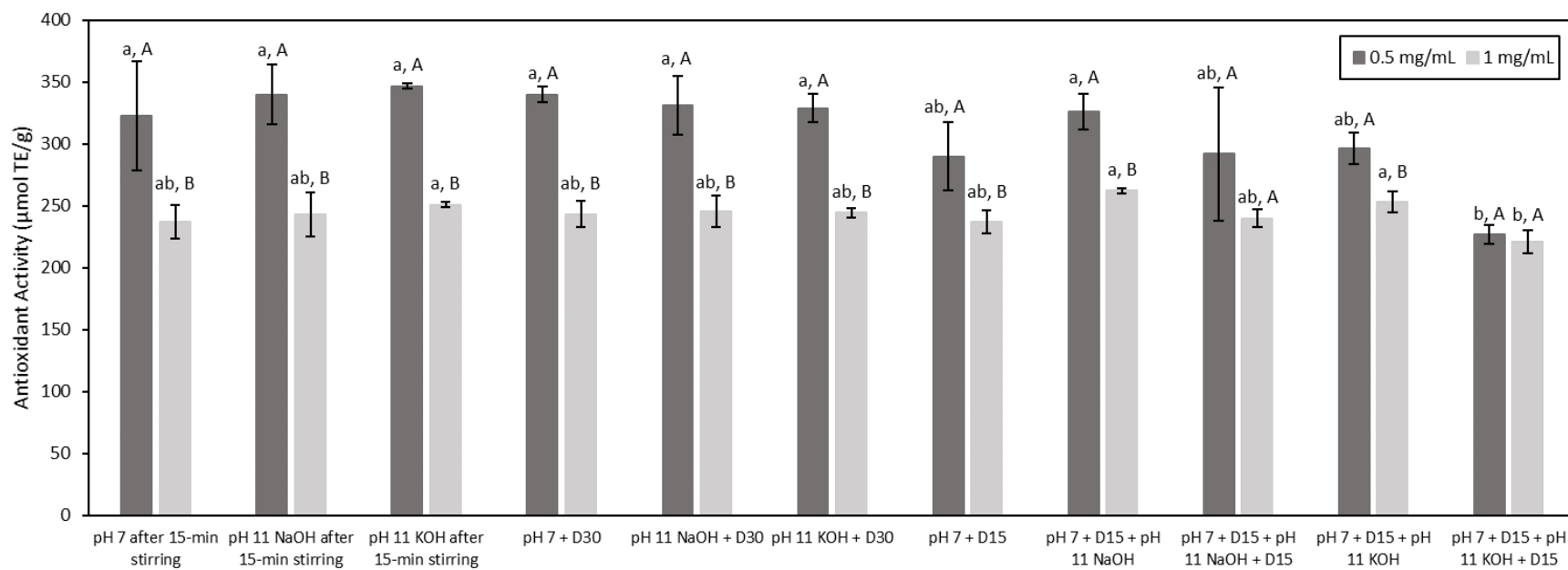


Figure 5-2. Antioxidant Activity of the HMM solutions ($\mu\text{mol TE/g}$) corresponding to the different tested conditions and determined by the ORAC test (mean \pm standard deviation); Values with different lowercase letters (a-b) within the same concentration are significantly different $p < 0.05$ (Tukey Test); values with different uppercase letters (A-B) within the same condition are significantly different $p < 0.05$ (t-test)

5.3.3.2. DPPH Radical Scavenging Activity

The DPPH test was also conducted to assess the antioxidant potential of the studied HMH and the impact of the different conditions on this latter. The DPPH test is based on the scavenging of DDPH free radical by an antioxidant material. This scavenging goes with a loss of the absorbance of the DDPH solution [113]. Results expressed as percentages of DPPH scavenging activity were presented in Figure 5-3. Globally, all the tested conditions showed a similar DPPH scavenging activity at a tested concentration of 0.5 mg/mL of peptides ($p > 0.05$) with an average DPPH scavenging activity of 94% (Figure 5-3). Similarly to what was observed for the ORAC test, the DPPH scavenging activity of the pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15 condition was identified as being significantly lower than those of the other conditions by statistical analyses ($p < 0.05$). Nonetheless, in a similar manner as before, since the DPPH scavenging activity obtained for this condition was in the same order as those of the other conditions, the detected differences could be perceived as minor. At a tested concentration of 1.0 mg/mL of peptides, all the conditions showed an average DDPH scavenging activity of 92%. Despite the fact that statistical analyses identified the pH 7 after 15-min stirring condition and the pH 7 + D15 + pH 11 NaOH + D15 one as being respectively those having the highest and the lowest DPPH scavenging activity ($p < 0.05$), since the values were all in the same range, the detected differences could be considered as minor. In addition, for most of the tested conditions, the highest DDPH scavenging activity was obtained at a concentration of 0.5 mg/mL of peptides rather than 1.0 mg/mL of peptides ($p > 0.05$). This might be due to the potential occurrence of interferences resulting from the presence of pigments in HMH solutions. In fact, the DPPH test being based on the change in the absorbance of the DPPH solution, the presence of colored compounds could lead to the underestimation of the antioxidant activity [271]. Since the HMH solutions at 1.0 mg/mL of peptides were more concentrated than those at 0.5 mg/mL of peptides and, as a consequence, their color was more pronounced, this could explain their lower antioxidant activity. It appears from these results that the assessed conditions had no impact on the antioxidant potential of HMH similarly to what was observed with the ORAC test and the same explanations could be involved. Interestingly, other fish protein hydrolysates such as catfish protein hydrolysate or cod protein hydrolysate evidenced DPPH scavenging activity respectively equal to 30 and 19% [272,273]. The literature reported as well DPPH scavenging activity ranging from 52 to almost 80% for respectively unfractionated silver carp protein hydrolysate and silver carp protein hydrolysate composed mainly of low-molecular-weight peptides at a concentration of 2 mg/mL [266]. Therefore, in comparison with other fish protein hydrolysate, it seems that the studied HMH showed an important DPPH scavenging activity even under an unfractionated state.

Results were expressed in $\mu\text{mol TE/g}$ as well and are presented in Figure 5-4. The same trend as those observed before were obtained in that case. Indeed, for a given concentration, all the tested conditions evidenced a similar antioxidant potential with average antioxidant activities of $378 \mu\text{mol TE/g}$ and $272 \mu\text{mol TE/g}$ at tested concentrations respectively equal to 0.5 mg/mL and 1.0 mg/mL of peptides. In addition, for all the tested conditions, higher antioxidant activity was obtained at 0.5 mg/mL of peptides rather than 1.0 mg/mL of peptides. Interestingly, the values of antioxidant activity determined by the DPPH test were in the same range as those determined by the ORAC test.

As a whole, results obtained by ORAC and DPPH tests seem to demonstrate the feasibility to deodorize HMH without affecting its antioxidant properties. Moreover, the values of antioxidant activities obtained in the present study may indicate that HMH would have a huge potential to be use as a new natural antioxidant.

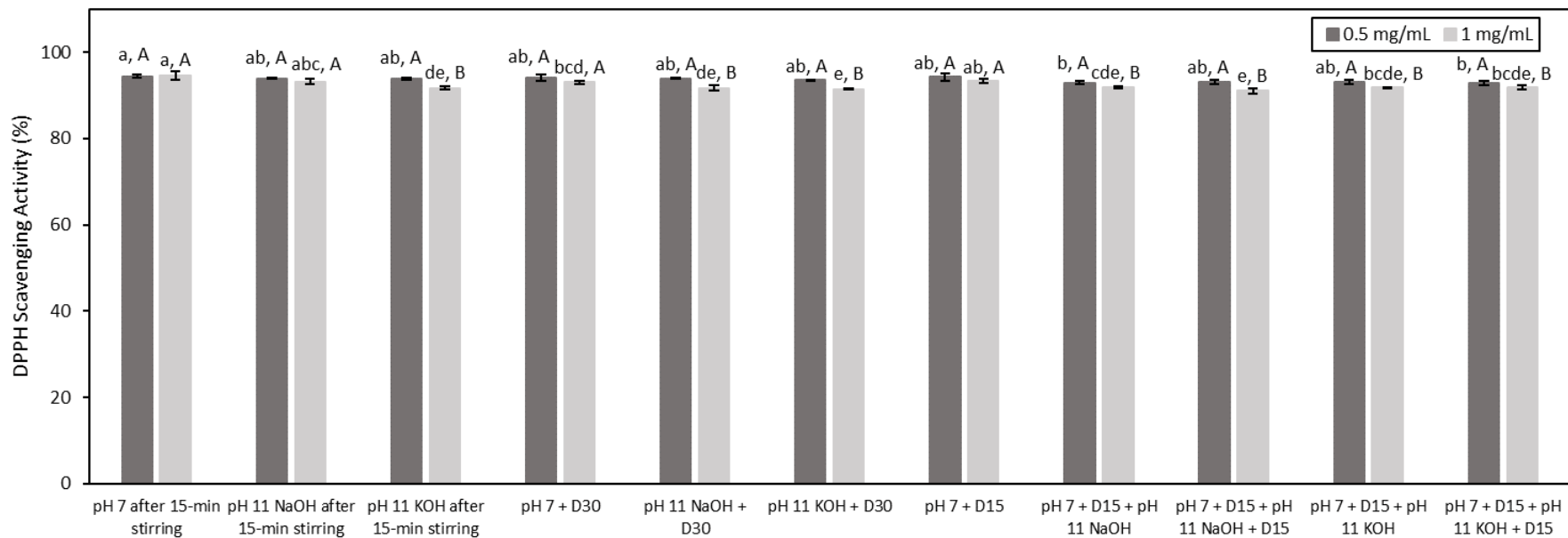


Figure 5-3. Antioxidant Activity of the HMH solutions corresponding to the different tested conditions and determined by the DPPH test (mean \pm standard deviation) expressed in DPPH Scavenging Activity (%); Values with different lowercase letters (a-e) within the same concentration are significantly different $p < 0.05$ (Tukey Test); values with different uppercase letters (A-B) within the same condition are significantly different $p < 0.05$ (t-test)

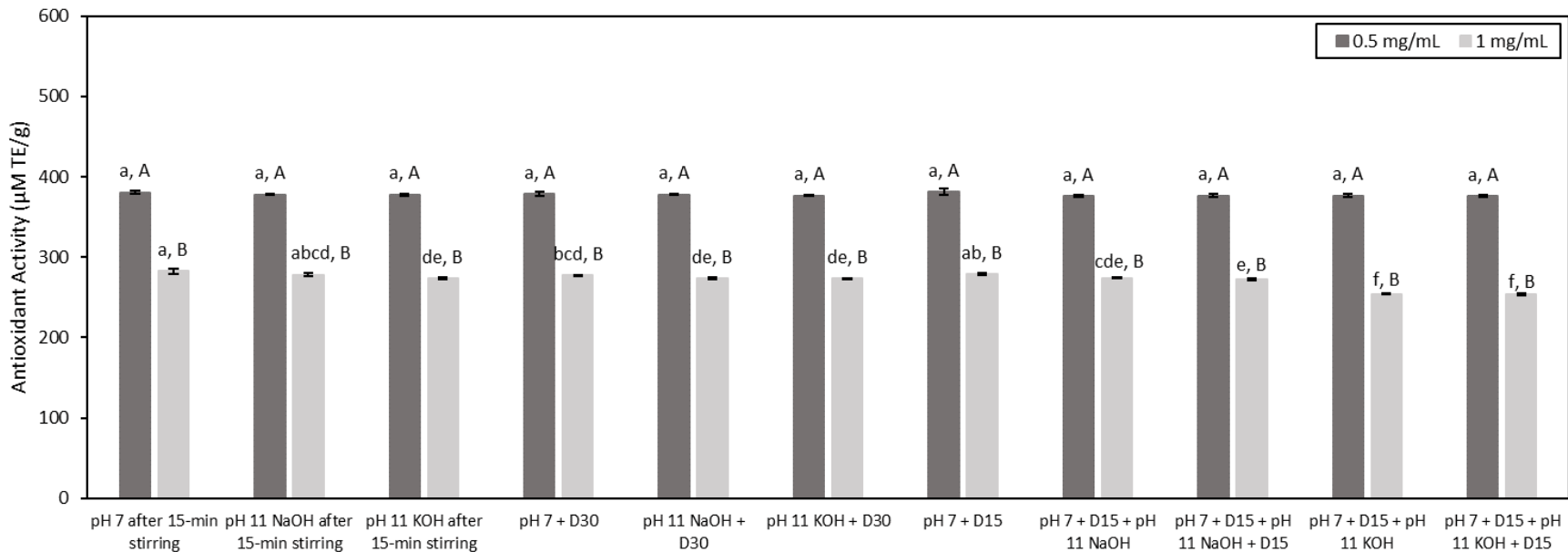


Figure 5-4. Antioxidant Activity of the HMH solutions corresponding to the different tested conditions and determined by the DPPH test (mean \pm standard deviation) expressed in $\mu\text{mol TE/g}$; Values with different lowercase letters (a-f) within the same concentration are significantly different $p < 0.05$ (Tukey Test); values with different uppercase letters (A-B) within the same condition are significantly different $p < 0.05$ (t-test)

5.4. Conclusion

This study aimed to optimize a deodorization method of HMH based on the use of a deaerator. Results showed that nitrogen-containing compounds involving DMA and TMA were significantly removed by deaerator treatments under alkaline conditions rather than neutral ones. This was due to their better availability at basic pH resulting in their better removal by the deaerator. The increase in pH from 10 to 11 did not appear to significantly affect the removal rate of these amines. Indeed, based on the results obtained, it seems that at pH 11, a certain proportion of released DMA and TMA molecules would be trapped into peptide chains hindering, thus, their optimal removal by the deaerator. Nevertheless, in comparison with other deodorization strategies, the removal rate of TMA and DMA reached in this study appeared to be higher. Regarding the most potent odor-active compounds of HMH, their removal was higher under neutral conditions due to their better availability. Under alkaline conditions, their involvement in non-covalent bindings hampered the deaerator to remove them as easily as under neutral ones. Therefore, this might indicate that the deaerator has not the ability to break weak interactions. To optimally deodorize HMH, the combination of deaerator treatments at both neutral and basic pHs was demonstrated as being an interesting avenue since the two targeted types of odorous volatile compounds evidenced opposite availability according to the pH condition. Therefore, for combined deaerator treatments, the first one at pH 7 allowed a decrease in the most potent odor-active compounds of HMH while the second one at pH 11 led to a decrease in DMA and TMA. Interestingly, results showed that the substitution of NaOH by KOH had no impact on the process performance. This indicates that KOH could definitely be used instead of NaOH allowing, thus, to overcome the problematic related to the generation of Na⁺ involved in hypertensive concerns while guaranteeing a high performance of the process. Sensory analysis confirmed that the pH 7 + D15 + pH 11 KOH + D15 condition was perceived as being the least odorous and could be, thus, considered as the optimal one to deodorize HMH. Moreover, results showed that the antioxidant properties of HMH were impacted neither by the deaerator nor by the different pH values assessed, independently of the use of NaOH or KOH for the alkalization procedure.

Therefore, this would demonstrate the feasibility of the method developed in this study to effectively deodorize HMH without affecting its bioactive capacity and this definitely shows its huge potential to be used as a new natural antioxidant. To support these promising results, it could be interesting to study the release of volatile compounds during consumption since the pathways involved in the perception of odorous compounds differ while the product is sniffed or consumed. This could be achieved by *in vivo* measurements conducted with continuous methods such as API-MS or PTR-MS or discontinuous ones such as RATD followed by a GC-MS analysis. In addition, it

could be relevant to deepen the knowledge regarding the bioactive potential of the deodorized HMH by assessing, in particular, its anti-inflammatory and antidiabetic activities since they were only demonstrated for the raw product that was not deodorized.

5.5. Acknowledgements

This research was funded by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) Industrial Research Chair on ElectroMembrane processes aiming the ecoefficiency improvement of biofood production lines (Grant IRCPJ 492889-15 to Laurent Bazinet). The authors acknowledge Ocean NutraSciences for supplying the herring milt hydrolysate powder. The authors acknowledge Diane GAGNON and Jacinthe THIBODEAU, professional researchers at Université Laval, for their assistance. The authors acknowledge Thibaud GEOFFROY and Mira ABOU DIAB for sharing their expertise related to antioxidant assays.

Atteinte des objectifs et avancement des connaissances

Cette étude a été mise en œuvre afin d'optimiser la méthode de désodorisation basée sur l'emploi du désaérateur. Les résultats obtenus ont confirmé que la combinaison de traitements de désaération en conditions neutre et basique était l'avenue la plus optimale à des fins de désodorisation de l'hydrolysate de laitance de hareng testé et, que le NaOH, pouvait aisément être remplacé par le KOH sans impacter la performance du procédé. En revanche, l'augmentation du pH de 10 à 11 n'a eu aucun impact sur le taux d'élimination de la TMA et de la DMA lors du traitement par désaérateur. Aussi, les résultats obtenus dans cette étude ont confirmé les mécanismes identifiés dans la précédente étude au regard de la disponibilité des composés odorants ciblés. De plus, les résultats analytiques ont encore une fois été appuyés par les résultats des analyses sensorielles confirmant la performance du procédé de désodorisation mis en œuvre. Finalement, cette étude a permis de démontrer la faisabilité de désodoriser l'hydrolysate de laitance de hareng sans impacter son potentiel antioxydant *in vitro*. Ainsi, cette troisième étude a de nouveau permis de répondre à l'objectif 1 visant à caractériser les molécules odorantes présentes dans l'hydrolysate de laitance de hareng et dans les fractions après traitements. Aussi, celle-ci a permis de satisfaire pleinement à l'objectif 2 visant à étudier l'impact du type de pré-traitement (brassage sous inertie, pH, nature du sel) sur le contenu odorant de l'hydrolysate testé. En outre, l'objectif 3 destiné à étudier l'impact de la technologie de désodorisation (électrodialyse, désaérateur) et de ses paramètres (courant électrique, pH, nature du sel) sur le contenu odorant de l'hydrolysate a été pleinement atteint. Finalement, les objectifs 4 et 5 ont eux aussi été pleinement satisfaits puisque d'une part, les mécanismes régissant le comportement des molécules odorantes identifiées dans l'hydrolysate testé en fonction du type de pré-traitement, de la technologie de désodorisation et de ses paramètres ont été pleinement élucidés et, d'autre part, l'impact de tous ces facteurs sur les propriétés sensorielles de l'hydrolysate (odeur) est désormais entièrement connu.

Ces résultats ont ainsi contribué à l'avancement des connaissances scientifiques puisqu'ils ont confirmé la faisabilité de désodoriser une matrice complexe telle que l'hydrolysate de laitance de hareng en mettant en œuvre une combinaison optimisée de procédés de désaération. De plus, ces résultats ont permis de réellement élucider et ce, pour la première fois, les impacts des conditions du milieu (pH, nature des sels) sur le comportement des composés odorants ciblés et sur leur retrait. Finalement, cette étude a permis de mettre en avant la faisabilité de procéder à la désodorisation de l'hydrolysate de laitance de hareng testé sans impacter son activité antioxydante *in vitro*.

Conclusion générale

Principaux résultats

Les travaux effectués dans le cadre de ce projet de doctorat avaient pour but d'évaluer la performance des procédés d'électrodialyse (ED) et de désaération à réduire le contenu odorant d'un hydrolysats de laitance de hareng. Les résultats des chapitres qui précèdent ont alors permis de démontrer que :

- Le contenu odorant d'un lot d'hydrolysats de laitance de hareng utilisé comme modèle comprenait 15 composés considérés comme ayant une contribution majeure à l'odeur de l'hydrolysats ainsi que les molécules de TMAO, TMA et DMA.
- L'ED n'a eu aucun impact sur le contenu odorant de l'hydrolysats et ce, indépendamment des conditions de courant (courant vs. sans courant) et de pH (pH 4 vs. pH 7) testées. Ainsi, à ce stade, ce procédé électromembranaire n'est pas apparu performant à des fins de désodorisation.
- Les phénomènes de colmatage membranaire et de dissociation des molécules d'eau ont été identifiés comme les limites majeures du procédé d'ED.
- Le procédé de désaération est performant à des fins de désodorisation de l'hydrolysats de laitance de hareng.
- Le pH a eu un impact majeur sur le contenu odorant ciblé, mais, selon les composés odorants, deux mécanismes d'action ont été observés. D'une part, il a été démontré que les composés considérés comme principaux contributeurs à l'odeur de l'hydrolysats testé étaient dans un état disponible en condition neutre tandis qu'en condition basique, ces derniers étaient davantage impliqués dans des interactions avec les autres constituants de l'hydrolysats. La tendance inverse a été observée pour les composés azotés et plus particulièrement pour la TMA.
- En raison de l'impact du pH sur la disponibilité des composés odorant ciblé, le traitement de désaération à pH 7 a conduit à une baisse significative des composés considérés comme principaux contributeurs à l'odeur en raison de leur meilleure disponibilité sous de telles conditions. D'autre part, le traitement de désaération en conditions basiques s'est, quant à lui, avéré plus performant pour réduire le contenu des composés azotés et, plus particulièrement, celui en TMA, du fait de la meilleure disponibilité de ces composés sous de telles conditions.

- Le recours à un pré-traitement du type brassage sous inertie n'a aucun impact sur le contenu odorant ciblé suggérant alors qu'il n'est pas nécessaire de poursuivre sa mise en œuvre en amont d'un traitement de désaération.
- Bien que la DMA ne soit plus présente sous sa forme chargée à pH 11, le traitement de désaération opéré sous de telles conditions de pH n'a pas permis une élimination supérieure de la molécule azotée comparativement à un traitement à pH 10 lorsque celle-ci est majoritairement présente sous sa forme cationique.
- La base employée afin de procéder à la basification de l'hydrolysate (NaOH vs. KOH) n'impacte pas le contenu odorant ciblé ni la performance du désaérateur.
- La combinaison de traitements de désaération en conditions neutre et basique s'est avérée être la meilleure avenue afin d'œuvrer en faveur de la désodorisation optimale de l'hydrolysate de laitance de hareng testé.
- La performance du procédé de désodorisation mis en œuvre a été confirmée par les procédures analytique et sensorielle.
- La méthode de désodorisation mise en œuvre n'a pas impacté le potentiel antioxydant de l'hydrolysate de laitance de hareng testé *in vitro*.

Ainsi, l'ensemble des résultats obtenus indique que l'hypothèse selon laquelle « *le type de pré-traitement (brassage sous inertie, pH, nature du sel), la technologie de désodorisation (électrodialyse, désaérateur) et ses paramètres (courant électrique, pH, nature du sel) influent sur les mécanismes régissant le comportement des molécules odorantes identifiées dans l'hydrolysate de laitance de hareng et sur leur niveau de retrait tout en impactant sa perception olfactive* » a été ici définitivement confirmée.

Bien que les résultats obtenus dans le cadre de ce projet de doctorat se révèlent être particulièrement prometteurs, certaines limites peuvent être soulignées.

- L'ED ne s'est pas avérée, à ce stade, performante à des fins de désodorisation. Et, tel que mentionné dans le chapitre 3, l'occurrence des phénomènes de dissociation des molécules d'eau et de colmatage des IEMs, identifiés comme étant des conditions limitantes au procédé d'ED, permettrait d'expliquer la raison pour laquelle de tels résultats ont été obtenus dans ce cas. Cependant, ceci ne signifie pas que le procédé d'ED ne sera jamais performant à des fins de désodorisation. Ceci suggère simplement que des efforts d'optimisation doivent être apportés. Ce projet de doctorat ne s'est pas intéressé à optimiser davantage le procédé d'ED à des fins de désodorisation puisque celui-ci a davantage orienté ses efforts sur l'optimisation

de la stratégie de désodorisation par désaération qui, s'est directement montrée performante et, de surcroît, plus aisément transférable à l'industriel partenaire.

- La stratégie de désodorisation basée sur le recours au désaérateur a été développée en effectuant des essais sur des solutions d'hydrolysats à 4% de protéines (*m/v*) ce qui, pourrait ne pas correspondre à la concentration à laquelle l'hydrolysats serait utilisé en industrie. Ainsi, il serait intéressant de s'assurer que le procédé de désodorisation développé dans le cadre de cette thèse soit tout aussi performant pour des concentrations supérieures en hydrolysats. En outre, la méthode de désodorisation a été développée en utilisant des solutions préparées à partir de poudre d'hydrolysats produite par atomisation. Dans des conditions correspondant à celles de l'industrie, le séchage par atomisation n'aurait pas été mené en amont du procédé de désodorisation mais en aval.
- L'ensemble des travaux de recherche réalisés dans le cadre de cette thèse a été conduit sur le même lot d'hydrolysats de laitance de hareng. D'une part, ces travaux n'ont donc pas tenu compte des potentielles variabilités pouvant exister entre des lots d'hydrolysats produits à des moments différents en termes de contenu en composés odorants. D'autre part, le contenu en composés volatils peut être soumis à des variations lors du stockage de l'hydrolysats et ce, même à des températures de l'ordre de celles de la congélation. Ceci explique notamment la raison pour laquelle des concentrations supérieures en TMA et DMA ont été constatées dans le chapitre 5 tandis que le TMAO n'était plus détecté.
- Les travaux de recherche menés dans le cadre de cette thèse se sont consacrés à la perception olfactive de l'hydrolysats mettant en jeu la voie orthonasale qui, correspond à la voie impliquée lorsqu'un produit est simplement senti et non pas consommé.

Conclusion

Les travaux de recherche présentés dans le cadre de cette thèse ont permis de caractériser les molécules odorantes présentes dans l'hydrolysats de laitance de hareng testé, d'apporter une meilleure compréhension relative aux mécanismes régissant la disponibilité ou, a contrario, la rétention de ces composés en fonction des conditions du milieu et, de démontrer la faisabilité de désodoriser cet hydrolysats en ayant recours au procédé de désaération. Plus précisément, la combinaison de traitements de désaération en conditions neutre et basique a été identifiée comme l'avenue la plus optimale afin de procéder à la désodorisation de l'hydrolysats de laitance de hareng testé. En effet, la première étape de désaération en condition neutre favorise l'élimination des composés considérés comme principaux contributeurs à l'odeur de l'hydrolysats du fait de leur meilleure disponibilité sous

de telles conditions. Quant à elle, la deuxième étape de désaération en condition basique permet d'œuvrer en faveur de l'élimination des composés azotés, plus précisément la TMA et la DMA, en raison de leur meilleure disponibilité sous de telles conditions. Également, en condition basique, les principaux contributeurs à l'odeur subsistant encore dans l'hydrolysate se retrouvent impliqués dans des interactions avec les autres constituants de l'hydrolysate. Ainsi, ceci les rend indisponibles et, par voie de conséquence, imperceptibles d'un point de vue olfactif ce qui, permet également de contribuer à la réduction de l'odeur de l'hydrolysate de laitance de hareng. La performance du procédé de désodorisation développé a été mise en lumière non seulement au niveau des méthodes analytiques mais aussi au niveau des analyses sensorielles.

Ainsi, les travaux de recherche relatifs à ce projet de doctorat ont permis l'apport de nouvelles connaissances ayant des retombées scientifiques, économiques et environnementales.

En termes de retombées scientifiques, ces travaux ont permis de développer une nouvelle stratégie de désodorisation basée sur le recours au désaérateur. Cette stratégie présente les avantages d'être efficace et simple d'utilisation permettant de surcroît la production d'un hydrolysate désodorisé dans un intervalle de temps minime. En effet, ces travaux ont permis de démontrer que le recours à la combinaison de deux traitements en conditions neutre et basique d'une durée de 15 min chacun seulement permettait d'œuvrer en faveur de la désodorisation de l'hydrolysate de laitance de hareng. La mise au point de cette méthode de désodorisation a été permise grâce à l'apport d'une meilleure compréhension relative au comportement des composés volatils présents dans l'hydrolysate de laitance de hareng. Cet aspect demeure relativement important dans un tel contexte puisqu'il représente un prérequis indispensable à la mise au point d'une méthode de désodorisation optimale. Il convient de souligner que même si l'ED ne s'est pas avérée, à ce stade, performante à des fins de désodorisation, les travaux entrepris ont contribué à l'avancée des connaissances relatives à ce procédé. Plus précisément, les résultats obtenus ont suggéré que, d'une part, les composés volatils étaient potentiellement capables d'établir des interactions avec les constituants des IEMs et que, d'autre part, la formation de nouvelles molécules de TMAO pouvait être potentiellement catalysée par les constituants des IEMs. Dans la mesure où, au cours des dernières années, un intérêt majeur a été porté aux interactions survenant entre les constituants des IEMs et les représentants protéiques, la mise en lumière de potentielles interactions entre les constituants des IEMs et les composés volatils ouvre de nouvelles pistes de recherche qui, permettront d'accroître les connaissances relatives au procédé d'ED.

En termes de retombées économiques, il est important de souligner que la désaération est un procédé courant à l'échelle industrielle et que les coûts associés à ce procédé seraient principalement liés à son achat ce qui, d'un point de vue économique représente un avantage conséquent. Ceci permettrait donc d'accroître la valorisation de l'hydrolysate de laitance de hareng en s'affranchissant de la contrainte liée à son odeur initiale sans nécessiter un investissement financier majeur. À ce stade, il convient de rappeler que le produit d'hydrolysate testé dans le cadre de ce projet provient d'une entreprise québécoise spécialisée dans la valorisation de la biomasse d'origine marine. Ainsi, la désodorisation de l'hydrolysate de laitance de hareng offre également l'opportunité à cette entreprise locale de conquérir de nouveaux consommateurs qui, initialement pouvaient être réticents à consommer ce genre de produits en raison de l'odeur qui y est associée. En d'autres termes, ceci offre l'opportunité à l'entreprise partenaire d'accroître son rayonnement économique.

En termes de retombées environnementales, la mise au point d'une méthode de désodorisation efficace offre l'opportunité d'accroître la valorisation des co-produits d'origine marine qui, pouvait se voir freinée en raison de leur odeur. Ceci permet donc d'inscrire l'utilisation des ressources d'origine marine dans une démarche beaucoup plus éco-responsable. De plus, il pourrait être aisément supposé que le procédé mis en œuvre dans le cadre de ce projet puisse être appliqué à la désodorisation d'autres matrices d'origine marine parmi lesquelles figurent d'autres sources de co-produits ce qui, permettrait, à une échelle beaucoup plus grande, d'œuvrer en faveur de la promotion de la valorisation de ces ressources. Ceci pourrait également favoriser la création de nouvelles entreprises spécialisées dans la valorisation de ces ressources ce qui, par la même occasion, offrirait l'opportunité de créer un climat économique dynamique.

Afin d'étayer les résultats obtenus dans le cadre de ce projet de doctorat, plusieurs perspectives découlent de ces travaux de recherche.

- Premièrement, les bioactivités (activités antioxydante, anti-inflammatoire et anti-diabète) de l'hydrolysate de laitance de hareng ont déjà été démontrées lors de précédents travaux de recherche. Ainsi, il serait intéressant d'évaluer l'impact du procédé de désodorisation développé dans le cadre de ce projet sur ces bioactivités. En effet, l'objectif d'une méthode de désodorisation vise simplement à éliminer les composés responsables d'odeur sans nuire aux activités biologiques ou fonctionnelles de la matrice traitée.
- Également, tel qu'il l'a été mentionné précédemment, la performance du procédé de désodorisation mis en œuvre a été démontrée seulement au niveau de la perception impliquant

la voie orthonasale. L'hydrolysat de laitance de hareng étant un produit destiné à être consommé, il serait donc pertinent d'évaluer si la performance du procédé de désodorisation développé se confirme également au niveau de la voie rétronasale qui, est la voie mise en jeu lors de la consommation d'un produit.

- De plus, il serait pertinent de se rapprocher des conditions qui pourraient être réellement opérées en industrie. Pour ce faire, il serait intéressant d'évaluer la capacité du procédé de désodorisation par désaération à être intégré au procédé de production de l'hydrolysat de laitance de hareng. En outre, à cet effet, des concentrations en hydrolysat supérieures à celle de 4% de protéines (*m/v*) utilisée pour ce projet pourraient être testées. Qui plus est, avant d'être disponible sur le marché, tel que mentionné précédemment, l'hydrolysat de laitance de hareng subit une étape de séchage par atomisation. Ainsi, afin de développer une méthode de désodorisation optimale, il serait intéressant de connaître l'impact du procédé de séchage sur le contenu odorant de l'hydrolysat de laitance de hareng.
- Une fois le procédé de désodorisation conduit, il serait important d'évaluer la durée pendant laquelle l'hydrolysat de laitance de hareng peut être conservé en maintenant une odeur acceptable. En effet, la dégradation des acides gras polyinsaturés peut notamment engendrer la production de composés volatils odorants ou encore, la transformation du TMAO dans des conditions de températures de l'ordre de celles de la congélation peut être responsable de la production de TMA et de DMA.
- D'un point de vue plus général, la stratégie de désodorisation mise en œuvre dans le cadre de ce projet pourrait être appliquée à d'autres matrices d'origine marine. En effet, même si selon la matrice traitée les composés odorants ciblés peuvent différer, ces derniers n'en restent pas moins volatils et donc facilement éliminables par désaération. Ceci offre donc l'opportunité d'accroître la valorisation des ressources marines.
- Finalement, bien que l'ED ne semble pas pertinente à des fins de désodorisation, il serait tout de même intéressant de davantage considérer l'impact d'un tel procédé sur le contenu odorant. À cet effet, les interactions pouvant survenir entre les constituants des IEMs et les composés volatils seraient un aspect clef à étudier. Et, même si cela ne conduit pas au développement d'une méthode de désodorisation, l'ED étant un procédé utilisé afin de traiter de nombreuses matrices alimentaires telles que les jus de fruits, les connaissances acquises pourront toujours être transférables à ces matrices et à leurs contenus en composés odorants.

Aussi, il pourrait aussi être judicieux d'envisager le recours à d'autres procédés électromembranaires tels que l'ED avec MBP afin de comparer leur performance à être employés à des fins de désodorisation comparativement à l'ED conventionnelle ici testée.

Bibliographie

1. FAO *La Situation Mondiale Des Pêches et de l'aquaculture 2020. La Durabilité En Action.*; Rome, 2020;
2. Marti-Quijal, F.J.; Remize, F.; Meca, G.; Ferrer, E.; Ruiz, M.-J.; Barba, F.J. Fermentation in Fish and By-Products Processing: An Overview of Current Research and Future Prospects. *Current Opinion in Food Science* **2020**, *31*, 9–16, doi:10.1016/j.cofs.2019.08.001.
3. Rustad, T.; Storrø, I.; Slizyte, R. Possibilities for the Utilisation of Marine By-Products. *International Journal of Food Science & Technology* **2011**, *46*, 2001–2014, doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02736.x.
4. Villamil, O.; Váquiro, H.; Solanilla, J.F. Fish Viscera Protein Hydrolysates: Production, Potential Applications and Functional and Bioactive Properties. *Food Chemistry* **2017**, *224*, 160–171, doi:10.1016/j.foodchem.2016.12.057.
5. Dave, D.; Routray, W. Current Scenario of Canadian Fishery and Corresponding Underutilized Species and Fishery Byproducts: A Potential Source of Omega-3 Fatty Acids. *Journal of Cleaner Production* **2018**, *180*, 617–641, doi:10.1016/j.jclepro.2018.01.091.
6. Kristinsson, H.G.; Rasco, B.A. Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional Properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **2000**, *40*, 43–81, doi:10.1080/10408690091189266.
7. Durand, R.; Fraboulet, E.; Marette, A.; Bazinet, L. Simultaneous Double Cationic and Anionic Molecule Separation from Herring Milt Hydrolysate and Impact on Resulting Fraction Bioactivities. *Separation and Purification Technology* **2019**, *210*, 431–441, doi:10.1016/j.seppur.2018.08.017.
8. Durand, R.; Pellerin, G.; Thibodeau, J.; Fraboulet, E.; Marette, A.; Bazinet, L. Screening for Metabolic Syndrome Application of a Herring By-Product Hydrolysate after Its Separation by Electrodialysis with Ultrafiltration Membrane and Identification of Novel Anti-Inflammatory Peptides. *Separation and Purification Technology* **2020**, *235*, 116205, doi:10.1016/j.seppur.2019.116205.
9. Durand, R.; Ouellette, A.; Houde, V.P.; Guénard, F.; Varin, T.V.; Marcotte, B.; Pilon, G.; Fraboulet, E.; Vohl, M.-C.; Marette, A.; et al. Animal and Cellular Studies Demonstrate Some of the Beneficial Impacts of Herring Milt Hydrolysates on Obesity-Induced Glucose Intolerance and Inflammation. *Nutrients* **2020**, *12*, 3235, doi:10.3390/nu12113235.
10. Wang, Y.; Gagnon, J.; Nair, S.; Sha, S. Herring Milt Protein Hydrolysate Improves Insulin Resistance in High-Fat-Diet-Induced Obese Male C57BL/6J Mice. *Mar Drugs* **2019**, *17*, doi:10.3390/md17080456.
11. Wang, Y.; Nair, S.; Gagnon, J. Herring Milt and Herring Milt Protein Hydrolysate Are Equally Effective in Improving Insulin Sensitivity and Pancreatic Beta-Cell Function in Diet-Induced Obese- and Insulin-Resistant Mice. *Mar Drugs* **2020**, *18*, 635, doi:10.3390/md18120635.
12. Chen, D.; Chen, X.; Chen, H.; Cai, B.; Wan, P.; Zhu, X.; Sun, H.; Sun, H.; Pan, J. Identification of Odor Volatile Compounds and Deodorization of *Paphia Undulata* Enzymatic Hydrolysate. *J. Ocean Univ. China* **2016**, *15*, 1101–1110, doi:10.1007/s11802-016-3166-7.
13. Baliño-Zuazo, L.; Barranco, A. A Novel Liquid Chromatography–Mass Spectrometric Method for the Simultaneous Determination of Trimethylamine, Dimethylamine and Methylamine in Fishery Products. *Food Chemistry* **2016**, *196*, 1207–1214, doi:10.1016/j.foodchem.2015.09.086.
14. Wu, T.H.; Bechtel, P.J. Ammonia, Dimethylamine, Trimethylamine, and Trimethylamine Oxide from Raw and Processed Fish By-Products. *Journal of Aquatic Food Product Technology* **2008**, *17*, 27–38, doi:10.1080/10498850801891140.
15. Chindapan, N.; Devahastin, S.; Chiewchan, N.; Sablani, S.S. Desalination of Fish Sauce by Electrodialysis: Effect on Selected Aroma Compounds and Amino Acid Compositions. *Journal of Food Science* **2011**, *76*, S451–S457, doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02296.x.

16. Cros, S.; Lignot, B.; Bourseau, P.; Jaouen, P.; Prost, C. Desalination of Mussel Cooking Juices by Electrodialysis: Effect on the Aroma Profile. *Journal of Food Engineering* **2005**, *69*, 425–436, doi:10.1016/j.jfoodeng.2004.08.036.
17. Jordán, M.J.; Goodner, K.L.; Laencina, J. Deaeration and Pasteurization Effects on the Orange Juice Aromatic Fraction. *LWT - Food Science and Technology* **2003**, *36*, 391–396, doi:10.1016/S0023-6438(03)00041-0.
18. Talcott, S.T.; Howard, L.R.; Brenes, C.H. Antioxidant Changes and Sensory Properties of Carrot Puree Processed with and without Periderm Tissue. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 1315–1321, doi:10.1021/jf9910178.
19. Tacon, A.G.J.; Lemos, D.; Metian, M. Fish for Health: Improved Nutritional Quality of Cultured Fish for Human Consumption. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture* **2020**, *28*, 449–458, doi:10.1080/23308249.2020.1762163.
20. Harnedy, P.A.; FitzGerald, R.J. Bioactive Peptides from Marine Processing Waste and Shellfish: A Review. *Journal of Functional Foods* **2012**, *4*, 6–24, doi:10.1016/j.jff.2011.09.001.
21. Gouvernement du Canada, P. et O.C. 2018 Valeur des pêches commerciales des Provinces Available online: <https://www.dfo-mpo.gc.ca/stats/commercial/land-debarq/sea-maritimes/s2018pv-fra.htm> (accessed on 15 June 2021).
22. Gouvernement du Canada, P. et O.C. Hareng de l'Atlantique Available online: <https://www.dfo-mpo.gc.ca/fisheries-peches/sustainable-durable/fisheries-peches/herring-hareng-fra.html> (accessed on 15 June 2021).
23. Nawaz, A.; Li, E.; Irshad, S.; Xiong, Z.; Xiong, H.; Shahbaz, H.M.; Siddique, F. Valorization of Fisheries By-Products: Challenges and Technical Concerns to Food Industry. *Trends in Food Science & Technology* **2020**, *99*, 34–43, doi:10.1016/j.tifs.2020.02.022.
24. Guttormsen, E.; Toldnes, B.; Bondø, M.; Eilertsen, A.; Gravidahl, J.T.; Mathiassen, J.R. A Machine Vision System for Robust Sorting of Herring Fractions. *Food Bioprocess Technol* **2016**, *9*, 1893–1900, doi:10.1007/s11947-016-1774-2.
25. Dziejulska, K.; Rzemieniecki, A.; Domagała, J. Basic Physico-Chemical Parameters of Milt from Sea Trout (*Salmo Trutta m. Trutta*), Brook Trout (*Salvelinus Fontinalis*) and Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*). *Journal of Applied Ichthyology* **2008**, *24*, 497–502, doi:10.1111/j.1439-0426.2008.01133.x.
26. Huynh, M.D.; Kitts, D.D.; Hu, C.; Trites, A.W. Comparison of Fatty Acid Profiles of Spawning and Non-Spawning Pacific Herring, *Clupea Harengus Pallasii*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* **2007**, *146*, 504–511, doi:10.1016/j.cbpb.2006.11.023.
27. Falch, E.; Størseth, T.R.; Aursand, M. Multi-Component Analysis of Marine Lipids in Fish Gonads with Emphasis on Phospholipids Using High Resolution NMR Spectroscopy. *Chemistry and Physics of Lipids* **2006**, *144*, 4–16, doi:10.1016/j.chemphyslip.2006.05.001.
28. Gill, T.A.; Singer, D.S.; Thompson, J.W. Purification and Analysis of Protamine. *Process Biochemistry* **2006**, *41*, 1875–1882, doi:10.1016/j.procbio.2006.04.001.
29. Liu, Y.-Y.; Chen, X.-F.; Hu, J.-W.; Chen, Z.-W.; Zhang, L.-J.; Cao, M.-J.; Liu, G.-M. Purification and Characterization of Protamine, the Allergen from the Milt of Large Yellow Croaker (*Pseudosciaena Crocea*), and Its Components. *J. Agric. Food Chem.* **2016**, *64*, 1999–2011, doi:10.1021/acs.jafc.5b05899.
30. Iwai, K.; Nakahara, C.; Ando, T. Studies on Protamines: XV. The Complete Amino Acid Sequence of the Z Component of Clupeine. Application of N \uparrow O Acyl Rearrangement and Selective Hydrolysis in Sequence Determination. *The Journal of Biochemistry* **1971**, *69*, 493–509, doi:10.1093/oxfordjournals.jbchem.a129492.
31. Suzuki, K.; Ando, T. Studies on Protamines: XVII. The Complete Amino Acid Sequence of Clupeine YI. *The Journal of Biochemistry* **1972**, *72*, 1433–1446, doi:10.1093/oxfordjournals.jbchem.a130036.

32. Suzuki, K.; Ando, T. Studies on Protamines: XVI. The Complete Amino Acid Sequence of Clupeine YII. *The Journal of Biochemistry* **1972**, *72*, 1419–1432, doi:10.1093/oxfordjournals.jbchem.a130035.
33. Fang, B.; Sun, J.; Dong, P.; Xue, C.; Mao, X. Conversion of Turbot Skin Wastes into Valuable Functional Substances with an Eco-Friendly Fermentation Technology. *Journal of Cleaner Production* **2017**, *156*, 367–377, doi:10.1016/j.jclepro.2017.04.055.
34. Kristinsson, H.G. Functional and Bioactive Peptides from Hydrolyzed Aquatic Food Proteins. In *Marine Nutraceuticals and Functional Foods*; 2007; pp. 229–246.
35. Samaranayaka, A.G.P.; Li-Chan, E.C.Y. Food-Derived Peptidic Antioxidants: A Review of Their Production, Assessment, and Potential Applications. *Journal of Functional Foods* **2011**, *3*, 229–254, doi:10.1016/j.jff.2011.05.006.
36. Elavarasan, K.; Kumar, V.N.; Shamasundar, B.A. Antioxidant and Functional Properties of Fish Protein Hydrolysates from Fresh Water Carp (*Catla Catla*) as Influenced by the Nature of Enzyme. *Journal of Food Processing and Preservation* **2014**, *38*, 1207–1214, doi:10.1111/jfpp.12081.
37. Idowu, A.T.; Benjakul, S.; Sinthusamran, S.; Sookchoo, P.; Kishimura, H. Protein Hydrolysate from Salmon Frames: Production, Characteristics and Antioxidative Activity. *Journal of Food Biochemistry* **2019**, *43*, e12734, doi:https://doi.org/10.1111/jfbc.12734.
38. Wasswa, J.; Tang, J.; Gu, X.; Yuan, X. Influence of the Extent of Enzymatic Hydrolysis on the Functional Properties of Protein Hydrolysate from Grass Carp (*Ctenopharyngodon Idella*) Skin. *Food Chemistry* **2007**, *104*, 1698–1704, doi:10.1016/j.foodchem.2007.03.044.
39. Zamorano-Apodaca, J.C.; García-Sifuentes, C.O.; Carvajal-Millán, E.; Vallejo-Galland, B.; Scheuren-Acevedo, S.M.; Lugo-Sánchez, M.E. Biological and Functional Properties of Peptide Fractions Obtained from Collagen Hydrolysate Derived from Mixed By-Products of Different Fish Species. *Food Chemistry* **2020**, *331*, 127350, doi:10.1016/j.foodchem.2020.127350.
40. Sampath Kumar, N.S.; Nazeer, R.A.; Jaiganesh, R. Purification and Biochemical Characterization of Antioxidant Peptide from Horse Mackerel (*Magalaspis Cordyla*) Viscera Protein. *Peptides* **2011**, *32*, 1496–1501, doi:10.1016/j.peptides.2011.05.020.
41. Picot, L.; Bordenave, S.; Didelot, S.; Fruitier-Arnaudin, I.; Sannier, F.; Thorkelsson, G.; Bergé, J.P.; Guérard, F.; Chabeaud, A.; Piot, J.M. Antiproliferative Activity of Fish Protein Hydrolysates on Human Breast Cancer Cell Lines. *Process Biochemistry* **2006**, *41*, 1217–1222, doi:10.1016/j.procbio.2005.11.024.
42. Roblet, C.; Akhtar, M.J.; Mikhaylin, S.; Pilon, G.; Gill, T.; Marette, A.; Bazinet, L. Enhancement of Glucose Uptake in Muscular Cell by Peptide Fractions Separated by Electrodialysis with Filtration Membrane from Salmon Frame Protein Hydrolysate. *Journal of Functional Foods* **2016**, *22*, 337–346, doi:10.1016/j.jff.2016.01.003.
43. Sila, A.; Hedhili, K.; Przybylski, R.; Ellouz-Chaabouni, S.; Dhulster, P.; Bougatef, A.; Nedjar-Arroume, N. Antibacterial Activity of New Peptides from Barbel Protein Hydrolysates and Mode of Action via a Membrane Damage Mechanism against *Listeria Monocytogenes*. *Journal of Functional Foods* **2014**, *11*, 322–329, doi:10.1016/j.jff.2014.10.006.
44. Ahn, C.-B.; Cho, Y.-S.; Je, J.-Y. Purification and Anti-Inflammatory Action of Tripeptide from Salmon Pectoral Fin Byproduct Protein Hydrolysate. *Food Chemistry* **2015**, *168*, 151–156, doi:10.1016/j.foodchem.2014.05.112.
45. Nasri, R.; Younes, I.; Jridi, M.; Trigui, M.; Bougatef, A.; Nedjar-Arroume, N.; Dhulster, P.; Nasri, M.; Karra-Châabouni, M. ACE Inhibitory and Antioxidative Activities of Goby (*Zosterisessor Ophiocephalus*) Fish Protein Hydrolysates: Effect on Meat Lipid Oxidation. *Food Research International* **2013**, *54*, 552–561, doi:10.1016/j.foodres.2013.07.001.
46. Šližytė, R.; Carvajal, A.K.; Mozuraityte, R.; Aursand, M.; Storrø, I. Nutritionally Rich Marine Proteins from Fresh Herring By-Products for Human Consumption. *Process Biochemistry* **2014**, *49*, 1205–1215, doi:10.1016/j.procbio.2014.03.012.

47. Liceaga-Gesualdo, A.M.; Li-Chan, E.C.Y. Functional Properties of Fish Protein Hydrolysate from Herring (*Clupea Harengus*). *Journal of Food Science* **1999**, *64*, 1000–1004, doi:10.1111/j.1365-2621.1999.tb12268.x.
48. Sathivel, S.; Bechtel, P.J.; Babbitt, J.; Smiley, S.; Crapo, C.; Reppond, K.D.; Prinyawiwatkul, W. Biochemical and Functional Properties of Herring (*Clupea Harengus*) Byproduct Hydrolysates. *Journal of Food Science* **2003**, *68*, 2196–2200, doi:10.1111/j.1365-2621.2003.tb05746.x.
49. Sathivel, S.; Bechtel, P.J.; Babbitt, J.; Prinyawiwatkul, W.; Negulescu, I.I.; Reppond, K.D. Properties of Protein Powders from Arrowtooth Flounder (*Atheresthes Stomias*) and Herring (*Clupea Harengus*) Byproducts. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5040–5046, doi:10.1021/jf0351422.
50. Hoyle, N.T.; Merritt, J.H. Quality of Fish Protein Hydrolysates from Herring (*Clupea Harengus*). *Journal of Food Science* **1994**, *59*, 76–79, doi:10.1111/j.1365-2621.1994.tb06901.x.
51. Beaulieu, L.; Thibodeau, J.; Bryl, P.; Carbonneau, M.-É. Proteolytic Processing of Herring (*Clupea Harengus*): Biochemical and Nutritional Characterisation of Hydrolysates. *International Journal of Food Science & Technology* **2009**, *44*, 2113–2119, doi:10.1111/j.1365-2621.2009.02046.x.
52. Beaulieu, L.; Desbiens, M.; Thibodeau, J.; Thibault, S. Pelagic Fish Hydrolysates as Peptones for Bacterial Culture Media. *Can. J. Microbiol.* **2009**, *55*, 1240–1249, doi:10.1139/W09-084.
53. Pilon, G.; Ruzzin, J.; Rioux, L.-E.; Lavigne, C.; White, P.J.; Frøyland, L.; Jacques, H.; Bryl, P.; Beaulieu, L.; Marette, A. Differential Effects of Various Fish Proteins in Altering Body Weight, Adiposity, Inflammatory Status, and Insulin Sensitivity in High-Fat-Fed Rats. *Metabolism* **2011**, *60*, 1122–1130, doi:10.1016/j.metabol.2010.12.005.
54. Drotningvik, A.; Mjøs, S.A.; Pampanin, D.M.; Slizyte, R.; Carvajal, A.; Remman, T.; Høgøy, I.; Gudbrandsen, O.A. Dietary Fish Protein Hydrolysates Containing Bioactive Motifs Affect Serum and Adipose Tissue Fatty Acid Compositions, Serum Lipids, Postprandial Glucose Regulation and Growth in Obese Zucker Fa/Fa Rats. *British Journal of Nutrition* **2016**, *116*, 1336–1345, doi:10.1017/S0007114516003548.
55. Drotningvik, A.; Pampanin, D.M.; Slizyte, R.; Carvajal, A.; Høgøy, I.; Remman, T.; Gudbrandsen, O.A. Hydrolyzed Proteins from Herring and Salmon Rest Raw Material Contain Peptide Motifs with Angiotensin-I Converting Enzyme Inhibitors and Resulted in Lower Urine Concentrations of Protein, Cystatin C and Glucose When Fed to Obese Zucker Fa/Fa Rats. *Nutrition Research* **2018**, *52*, 14–21, doi:10.1016/j.nutres.2018.01.001.
56. Pampanin, D.M.; Larssen, E.; Provan, F.; Sivertsvik, M.; Ruoff, P.; Sydnes, M.O. Detection of Small Bioactive Peptides from Atlantic Herring (*Clupea Harengus* L.). *Peptides* **2012**, *34*, 423–426, doi:10.1016/j.peptides.2012.02.005.
57. Wang, K.; Arntfield, S.D. Effect of Protein-Flavour Binding on Flavour Delivery and Protein Functional Properties: A Special Emphasis on Plant-Based Proteins. *Flavour and Fragrance Journal* **2017**, *32*, 92–101, doi:10.1002/ffj.3365.
58. Halim, N.R.A.; Yusof, H.M.; Sarbon, N.M. Functional and Bioactive Properties of Fish Protein Hydrolysates and Peptides: A Comprehensive Review. *Trends in Food Science & Technology* **2016**, *51*, 24–33, doi:10.1016/j.tifs.2016.02.007.
59. Richard, H. Connaissance de La Nature Des Arômes. In *Les Arômes alimentaires*; Paris : Lavoisier Tec & Doc, 1992; pp. 22–37.
60. Varlet, V.; Prost, C.; Serot, T. Volatile Aldehydes in Smoked Fish: Analysis Methods, Occurrence and Mechanisms of Formation. *Food Chemistry* **2007**, *105*, 1536–1556, doi:10.1016/j.foodchem.2007.03.041.
61. Peinado, I.; Koutsidis, G.; Ames, J. Production of Seafood Flavour Formulations from Enzymatic Hydrolysates of Fish By-Products. *LWT - Food Science and Technology* **2016**, *66*, 444–452, doi:10.1016/j.lwt.2015.09.025.
62. Giri, A.; Osako, K.; Okamoto, A.; Ohshima, T. Olfactometric Characterization of Aroma Active Compounds in Fermented Fish Paste in Comparison with Fish Sauce, Fermented Soy Paste and

- Sauce Products. *Food Research International* **2010**, *43*, 1027–1040, doi:10.1016/j.foodres.2010.01.012.
63. Bai, J.; Baker, S.M.; Goodrich-Schneider, R.M.; Montazeri, N.; Sarnoski, P.J. Aroma Profile Characterization of Mahi-Mahi and Tuna for Determining Spoilage Using Purge and Trap Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J Food Sci* **2019**, *84*, 481–489, doi:10.1111/1750-3841.14478.
 64. Chan, S.T.; Yao, M.W.Y.; Wong, Y.C.; Wong, T.; Mok, C.S.; Sin, D.W.M. Evaluation of Chemical Indicators for Monitoring Freshness of Food and Determination of Volatile Amines in Fish by Headspace Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Eur Food Res Technol* **2006**, *224*, 67, doi:10.1007/s00217-006-0290-4.
 65. Ganeko, N.; Shoda, M.; Hirohara, I.; Bhadra, A.; Ishida, T.; Matsuda, H.; Takamura, H.; Matoba, T. Analysis of Volatile Flavor Compounds of Sardine (*Sardinops Melanostica*) by Solid Phase Microextraction. *Journal of Food Science* **2008**, *73*, S83–S88, doi:https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00608.x.
 66. Natale, C.D.; Olafsdottir, G.; Einarsson, S.; Martinelli, E.; Paolesse, R.; D'Amico, A. Comparison and Integration of Different Electronic Noses for Freshness Evaluation of Cod-Fish Fillets. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2001**, *77*, 572–578, doi:10.1016/S0925-4005(01)00692-X.
 67. Varlet, V.; Knockaert, C.; Prost, C.; Serot, T. Comparison of Odor-Active Volatile Compounds of Fresh and Smoked Salmon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**, *54*, 3391–3401, doi:10.1021/jf053001p.
 68. Hummel, T. Retronasal Perception of Odors. *Chemistry & Biodiversity* **2008**, *5*, 853–861, doi:10.1002/cbdv.200890100.
 69. Dietrich, A.M. The Sense of Smell: Contributions of Orthonasal and Retronasal Perception Applied to Metallic Flavor of Drinking Water. *Journal of Water Supply: Research and Technology-Aqua* **2009**, *58*, 562–570, doi:10.2166/aqua.2009.122.
 70. Stockhorst, U.; Pietrowsky, R. Olfactory Perception, Communication, and the Nose-to-Brain Pathway. *Physiology & Behavior* **2004**, *83*, 3–11, doi:10.1016/j.physbeh.2004.07.018.
 71. Tegoni, M.; Pelosi, P.; Vincent, F.; Spinelli, S.; Campanacci, V.; Grolli, S.; Ramoni, R.; Cambillau, C. Mammalian Odorant Binding Proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology* **2000**, *1482*, 229–240, doi:10.1016/S0167-4838(00)00167-9.
 72. Giungato, P.; Di Gilio, A.; Palmisani, J.; Marzocca, A.; Mazzone, A.; Brattoli, M.; Giua, R.; de Gennaro, G. Synergistic Approaches for Odor Active Compounds Monitoring and Identification: State of the Art, Integration, Limits and Potentialities of Analytical and Sensorial Techniques. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2018**, *107*, 116–129, doi:10.1016/j.trac.2018.07.019.
 73. Zhang, Z.; Li, G. A Review of Advances and New Developments in the Analysis of Biological Volatile Organic Compounds. *Microchemical Journal* **2010**, *95*, 127–139, doi:10.1016/j.microc.2009.12.017.
 74. Lubes, G.; Goodarzi, M. Analysis of Volatile Compounds by Advanced Analytical Techniques and Multivariate Chemometrics. *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 6399–6422, doi:10.1021/acs.chemrev.6b00698.
 75. Chaintreau, A. Simultaneous Distillation–Extraction: From Birth to Maturity—Review. *Flavour and Fragrance Journal* **2001**, *16*, 136–148, doi:10.1002/ffj.967.
 76. Varlet, V.; Serot, T.; Cardinal, M.; Knockaert, C.; Prost, C. Olfactometric Determination of the Most Potent Odor-Active Compounds in Salmon Muscle (*Salmo Salar*) Smoked by Using Four Smoke Generation Techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007**, *55*, 4518–4525, doi:10.1021/jf063468f.
 77. Selli, S.; Cayhan, G.G. Analysis of Volatile Compounds of Wild Gilthead Sea Bream (*Sparus Aurata*) by Simultaneous Distillation–Extraction (SDE) and GC–MS. *Microchemical Journal* **2009**, *93*, 232–235, doi:10.1016/j.microc.2009.07.010.

78. Zhang, J.; Cao, J.; Pei, Z.; Wei, P.; Xiang, D.; Cao, X.; Shen, X.; Li, C. Volatile Flavour Components and the Mechanisms Underlying Their Production in Golden Pompano (*Trachinotus Blochii*) Fillets Subjected to Different Drying Methods: A Comparative Study Using an Electronic Nose, an Electronic Tongue and SDE-GC-MS. *Food Research International* **2019**, *123*, 217–225, doi:10.1016/j.foodres.2019.04.069.
79. Chung, H.Y.; Yung, I.K.S.; Ma, W.C.J.; Kim, J.-S. Analysis of Volatile Components in Frozen and Dried Scallops (*Patinopecten Yessoensis*) by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Food Research International* **2002**, *35*, 43–53, doi:10.1016/S0963-9969(01)00107-7.
80. Cha, Y.J.; Cadwallader, K.R. Volatile Components in Salt-Fermented Fish and Shrimp Pastes. *Journal of Food Science* **1995**, *60*, 19–24, doi:10.1111/j.1365-2621.1995.tb05597.x.
81. Jiang, J.-J.; Zeng, Q.-X.; Zhu, Z.-W. Analysis of Volatile Compounds in Traditional Chinese Fish Sauce (Yu Lu). *Food Bioprocess Technol* **2011**, *4*, 266–271, doi:10.1007/s11947-008-0173-8.
82. Hashemi, P.; Abolghasemi, M.M.; Fakhari, A.R.; Ebrahimi, S.N.; Ahmadi, S. Hydrodistillation–Solvent Microextraction and GC–MS Identification of Volatile Components of *Artemisia Aucheri*. *Chroma* **2007**, *66*, 283–286, doi:10.1365/s10337-007-0289-4.
83. Ferhat, M.A.; Tigrine-Kordjani, N.; Chemat, S.; Meklati, B.Y.; Chemat, F. Rapid Extraction of Volatile Compounds Using a New Simultaneous Microwave Distillation: Solvent Extraction Device. *Chroma* **2007**, *65*, 217–222, doi:10.1365/s10337-006-0130-5.
84. Murat, C.; Gourrat, K.; Jerosch, H.; Cayot, N. Analytical Comparison and Sensory Representativity of SAFE, SPME, and Purge and Trap Extracts of Volatile Compounds from Pea Flour. *Food Chemistry* **2012**, *135*, 913–920, doi:10.1016/j.foodchem.2012.06.015.
85. Schmidt, K.; Podmore, I. Current Challenges in Volatile Organic Compounds Analysis as Potential Biomarkers of Cancer. *Journal of Biomarkers* **2015**, *2015*, 1–16, doi:10.1155/2015/981458.
86. Liu, S.; Liao, T.; McCrummen, S.T.; Hanson, T.R.; Wang, Y. Exploration of Volatile Compounds Causing Off-Flavor in Farm-Raised Channel Catfish (*Ictalurus Punctatus*) Fillet. *Aquaculture International* **2017**, *25*, 413–422, doi:10.1007/s10499-016-0038-5.
87. Song, G.; Zhang, M.; Peng, X.; Yu, X.; Dai, Z.; Shen, Q. Effect of Deodorization Method on the Chemical and Nutritional Properties of Fish Oil during Refining. *LWT* **2018**, *96*, 560–567, doi:10.1016/j.lwt.2018.06.004.
88. Song, G.; Dai, Z.; Shen, Q.; Peng, X.; Zhang, M. Analysis of the Changes in Volatile Compound and Fatty Acid Profiles of Fish Oil in Chemical Refining Process. *European Journal of Lipid Science and Technology* **2018**, *120*, 1700219, doi:https://doi.org/10.1002/ejlt.201700219.
89. Lapsongphon, N.; Cadwallader, K.R.; Rodtong, S.; Yongsawatdigul, J. Characterization of Protein Hydrolysis and Odor-Active Compounds of Fish Sauce Inoculated with *Virgibacillus* Sp. SK37 under Reduced Salt Content. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 6604–6613, doi:10.1021/jf4014923.
90. Pham, A.J.; Schilling, M.W.; Yoon, Y.; Kamadia, V.V.; Marshall, D.L. Characterization of Fish Sauce Aroma-Impact Compounds Using GC-MS, SPME-Osme-GCO, and Stevens' Power Law Exponents. *Journal of Food Science* **2008**, *73*, C268–C274, doi:10.1111/j.1750-3841.2008.00709.x.
91. Song, N.-E.; Lee, J.-Y.; Lee, Y.-Y.; Park, J.-D.; Jang, H.W. Comparison of Headspace–SPME and SPME–Arrow–GC–MS Methods for the Determination of Volatile Compounds in Korean Salt–Fermented Fish Sauce. *Appl Biol Chem* **2019**, *62*, 16, doi:10.1186/s13765-019-0424-6.
92. Ruan, E.D.; Aalhus, J.L.; Summerfelt, S.T.; Davidson, J.; Swift, B.; Juárez, M. Determination of Off-Flavor Compounds, 2-Methylisoborneol and Geosmin, in Salmon Fillets Using Stir Bar Sorptive Extraction–Thermal Desorption Coupled with Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2013**, *1321*, 133–136, doi:10.1016/j.chroma.2013.10.038.

93. Huang, X.-H.; Zheng, X.; Chen, Z.-H.; Zhang, Y.-Y.; Du, M.; Dong, X.-P.; Qin, L.; Zhu, B.-W. Fresh and Grilled Eel Volatile Fingerprinting by E-Nose, GC-O, GC-MS and GC × GC-QTOF Combined with Purge and Trap and Solvent-Assisted Flavor Evaporation. *Food Research International* **2019**, *115*, 32–43, doi:10.1016/j.foodres.2018.07.056.
94. Fukami, K.; Funatsu, Y.; Kawasaki, K.; Watabe, S. Improvement of Fish-Sauce Odor by Treatment with Bacteria Isolated from the Fish-Sauce Mush (Moromi) Made from Frigate Mackerel. *Journal of Food Science* **2004**, *69*, fms45–fms49, doi:10.1111/j.1365-2621.2004.tb15514.x.
95. Yang, Y.; Chen, S.; Ni, H.; Ye, X. Analysis of Volatile Components in a Chinese Fish Sauce, Fuzhou Yulu, by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* **2008**, *9*, 977–981, doi:10.1631/jzus.B0820021.
96. Roh, H.; Park, J.; Park, S.; Chun, B. Isolation of Off-Flavors and Odors from Tuna Fish Oil Using Supercritical Carbon Dioxide. *Biotechnology and Bioprocess Engineering : BBE* **2006**, *11*, 496–502, doi:http://dx.doi.org.acces.bibl.ulaval.ca/10.1007/BF02932073.
97. Shimoda, M.; Yamamoto, Y.; Cocunubo-Castellanos, J.; Yoshimura, T.; Miyake, M.; Ishikawa, H.; Osajima, Y. Deodorization of Fish Sauce by Continuous-Flow Extraction with Microbubbles of Supercritical Carbon Dioxide. *Journal of Food Science* **2000**, *65*, 1349–1351, doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10610.x.
98. Laplante, S.; Souchet, N.; Bryl, P. Comparison of Low-Temperature Processes for Oil and Coenzyme Q10 Extraction from Mackerel and Herring. *European Journal of Lipid Science and Technology* **2009**, *111*, 135–141, doi:10.1002/ejlt.200800133.
99. Li, Y.; Wang, Y.; Yuan, D.; Li, Y.; Zhang, L. Comparison of SDE and SPME for the Analysis of Volatile Compounds in Butters. *Food Sci Biotechnol* **2020**, *29*, 55–62, doi:10.1007/s10068-019-00647-z.
100. Contarini, G.; Povolo, M. Volatile Fraction of Milk: Comparison between Purge and Trap and Solid Phase Microextraction Techniques. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 7350–7355, doi:10.1021/jf025713a.
101. Majcher, M.; Jeleń, H.H. Comparison of Suitability of SPME, SAFE and SDE Methods for Isolation of Flavor Compounds from Extruded Potato Snacks. *Journal of Food Composition and Analysis* **2009**, *22*, 606–612, doi:10.1016/j.jfca.2008.11.006.
102. Farajzadeh, M.A.; Nouri, N.; Khorram, P. Derivatization and Microextraction Methods for Determination of Organic Compounds by Gas Chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2014**, *55*, 14–23, doi:10.1016/j.trac.2013.11.006.
103. Fernandez, X.; Breme, K.; Varlet, V. Couplage chromatographie en phase gazeuse/olfactométrie. *Techniques de l'ingénieur* **2009**, *P1488*, 1–18.
104. Fukami, K.; Ishiyama, S.; Yaguramaki, H.; Masuzawa, T.; Nabeta, Y.; Endo, K.; Shimoda, M. Identification of Distinctive Volatile Compounds in Fish Sauce. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, *50*, 5412–5416, doi:10.1021/jf020405y.
105. Chung, S.W.C.; Chan, B.T.P. Trimethylamine Oxide, Dimethylamine, Trimethylamine and Formaldehyde Levels in Main Traded Fish Species in Hong Kong. *Food Additives & Contaminants: Part B: Surveillance Communications* **2009**, *2*, 44–51, doi:10.1080/02652030902858921.
106. Seibel, B.A.; Walsh, P.J. Trimethylamine Oxide Accumulation in Marine Animals: Relationship to Acylglycerol Storage. *Journal of Experimental Biology* **2002**, *205*, 297–306, doi:10.1242/jeb.205.3.297.
107. Chung, H.Y.; Yeung, C.W.; Kim, J.-S.; Chen, F. Static Headspace Analysis-Olfactometry (SHA-O) of Odor Impact Components in Salted-Dried White Herring (*Ilisha elongata*). *Food Chemistry* **2007**, *104*, 842–851, doi:10.1016/j.foodchem.2006.08.036.
108. Aidos, I.; Jacobsen, C.; Jensen, B.; Lutén, J.B.; Padt, A. van der; Boom, R.M. Volatile Oxidation Products Formed in Crude Herring Oil under Accelerated Oxidative Conditions.

- European Journal of Lipid Science and Technology* **2002**, *104*, 808–818, doi:10.1002/1438-9312(200212)104:12<808::AID-EJLT808>3.0.CO;2-J.
109. Aro, T.; Tahvonon, R.; Koskinen, L.; Kallio, H. Volatile Compounds of Baltic Herring Analysed by Dynamic Headspace Sampling–Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Eur Food Res Technol* **2003**, *216*, 483–488, doi:10.1007/s00217-003-0678-3.
 110. Joaquin, H.J.F.; Tolasa, S.; Oliveira, A.C.M.; Lee, C.M.; Lee, K.H. Effect of Milk Protein Concentrate on Lipid Oxidation and Formation of Fishy Volatiles in Herring Mince (*Clupea Harengus*) during Frozen Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2008**, *56*, 166–172, doi:10.1021/jf072460i.
 111. Sajib, M.; Undeland, I. Towards Valorization of Herring Filleting By-Products to Silage 2.0: Effect of Temperature and Time on Lipid Oxidation and Non-Enzymatic Browning Reactions. *LWT* **2020**, *127*, 109441, doi:10.1016/j.lwt.2020.109441.
 112. Aro, T.; Brede, C.; Manninen, P.; Kallio, H. Determination of Semivolatile Compounds in Baltic Herring (*Clupea Harengus Membras*) by Supercritical Fluid Extraction–Supercritical Fluid Chromatography–Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 1970–1975, doi:10.1021/jf010829c.
 113. Tremblay, A.; Corcuff, R.; Goulet, C.; Godefroy, S.B.; Doyen, A.; Beaulieu, L. Valorization of Snow Crab (Chionoecetes Opilio) Cooking Effluents for Food Applications. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2020**, *100*, 384–393, doi:10.1002/jsfa.10066.
 114. Tremblay, A.; Corcuff, R.; Goulet, C.; Godefroy, S.B.; Doyen, A.; Beaulieu, L. Valorization of American Lobster (Homarus Americanus) Cooking Waters: Preparation and Characterization of a Food Ingredient. *Journal of Food Processing and Preservation* **2021**, *45*, e15665, doi:10.1111/jfpp.15665.
 115. Cardinal, M.; Chaussy, M.; Donnay-Moreno, C.; Cornet, J.; Rannou, C.; Fillonneau, C.; Prost, C.; Baron, R.; Courcoux, P. Use of Random Forest Methodology to Link Aroma Profiles to Volatile Compounds: Application to Enzymatic Hydrolysis of Atlantic Salmon (Salmo Salar) by-Products Combined with Maillard Reactions. *Food Research International* **2020**, *134*, 109254, doi:10.1016/j.foodres.2020.109254.
 116. Pan, J.; Jia, H.; Shang, M.; Li, Q.; Xu, C.; Wang, Y.; Wu, H.; Dong, X. Effects of Deodorization by Powdered Activated Carbon, β -Cyclodextrin and Yeast on Odor and Functional Properties of Tiger Puffer (Takifugu Rubripes) Skin Gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules* **2018**, *118*, 116–123, doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.06.023.
 117. Ruiz-Hernández, V.; Roca, M.J.; Egea-Cortines, M.; Weiss, J. A Comparison of Semi-Quantitative Methods Suitable for Establishing Volatile Profiles. *Plant Methods* **2018**, *14*, 67, doi:10.1186/s13007-018-0335-2.
 118. Fang, Y.; Gu, S.; Zhang, J.; Liu, S.; Ding, Y.; Liu, J. Deodorisation of Fish Oil by Nanofiltration Membrane Process: Focus on Volatile Flavour Compounds and Fatty Acids Composition. *International Journal of Food Science & Technology* **2018**, *53*, 692–699, doi:10.1111/ijfs.13644.
 119. Grosch, W. Evaluation of the Key Odorants of Foods by Dilution Experiments, Aroma Models and Omission. *Chem Senses* **2001**, *26*, 533–545, doi:10.1093/chemse/26.5.533.
 120. Menis-Henrique, M.E.C. Methodologies to Advance the Understanding of Flavor Chemistry. *Current Opinion in Food Science* **2020**, *33*, 131–135, doi:10.1016/j.cofs.2020.04.005.
 121. Le Guen, S.; Prost, C.; Demaimay, M. Critical Comparison of Three Olfactometric Methods for the Identification of the Most Potent Odorants in Cooked Mussels (*Mytilus Edulis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2000**, *48*, 1307–1314, doi:10.1021/jf990745s.
 122. Hallier, A.; Courcoux, P.; Sérot, T.; Prost, C. New Gas Chromatography–Olfactometric Investigative Method, and Its Application to Cooked Silurus Glanis (European Catfish) Odor Characterization. *Journal of Chromatography A* **2004**, *1056*, 201–208, doi:10.1016/j.chroma.2004.06.044.

123. Varming, C.; Petersen, M.A.; Poll, L. Comparison of Isolation Methods for the Determination of Important Aroma Compounds in Black Currant (*Ribes Nigrum* L.) Juice, Using Nasal Impact Frequency Profiling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2004**, *52*, 1647–1652, doi:10.1021/jf035133t.
124. Cicchetti, E.; Vasseur, C. Critical Comparison of Selected Olfactometric Methods for the Determination of Impact Odorants. Proposal of a New Representation of Olfactometric Results. *Flavour and Fragrance Journal* **2018**, *33*, 144–152, doi:10.1002/ffj.3426.
125. Marsili, R.T.; Laskonis, C.R. Odorant Synergy Effects as the Cause of Fishy Malodors in Algal Marine Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2014**, *62*, 9676–9682, doi:10.1021/jf502252q.
126. Zhou, X.; Chong, Y.; Ding, Y.; Gu, S.; Liu, L. Determination of the Effects of Different Washing Processes on Aroma Characteristics in Silver Carp Mince by MMSE–GC–MS, e-Nose and Sensory Evaluation. *Food Chemistry* **2016**, *207*, 205–213, doi:10.1016/j.foodchem.2016.03.026.
127. Baldwin, E.A.; Bai, J.; Plotto, A.; Dea, S. Electronic Noses and Tongues: Applications for the Food and Pharmaceutical Industries. *Sensors (Basel)* **2011**, *11*, 4744–4766, doi:10.3390/s110504744.
128. Sironi, S.; Capelli, L.; Céntola, P.; Del Rosso, R.; Pierucci, S. Odour Impact Assessment by Means of Dynamic Olfactometry, Dispersion Modelling and Social Participation. *Atmospheric Environment* **2010**, *44*, 354–360, doi:10.1016/j.atmosenv.2009.10.029.
129. Guichard, E. Interactions between Flavor Compounds and Food Ingredients and Their Influence on Flavor Perception. *Food Reviews International* **2002**, *18*, 49–70, doi:10.1081/FRI-120003417.
130. Kopjar, M.; Andriot, I.; Saint-Eve, A.; Souchon, I.; Guichard, E. Retention of Aroma Compounds: An Interlaboratory Study on the Effect of the Composition of Food Matrices on Thermodynamic Parameters in Comparison with Water. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2010**, *90*, 1285–1292, doi:10.1002/jsfa.3929.
131. Savary, G.; Guichard, E.; Doublier, J.-L.; Cayot, N.; Moreau, C. Influence of Ingredients on the Self-Diffusion of Aroma Compounds in a Model Fruit Preparation: An Nuclear Magnetic Resonance–Diffusion-Ordered Spectroscopy Investigation. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 665–671, doi:10.1021/jf052088b.
132. Savary, G.; Lafarge, C.; Doublier, J.-L.; Cayot, N. Distribution of Aroma in a Starch–Polysaccharide Composite Gel. *Food Research International* **2007**, *40*, 709–716, doi:10.1016/j.foodres.2007.01.002.
133. van Ruth, S.M. van; Roozen, J.P. Delivery of Flavours from Food Matrices. In *Flavour technology*; A.J. Taylor (Ed), Sheffield: Sheffield Academic Press Ltd., 2002; pp. 167–184.
134. Gijs, L.; Piraprez, G.; Perpète, P.; Spinnler, E.; Collin, S. Retention of Sulfur Flavours by Food Matrix and Determination of Sensorial Data Independent of the Medium Composition. *Food Chemistry* **2000**, *69*, 319–330, doi:10.1016/S0956-7135(99)00111-5.
135. Buttery, R.G.; Guadagni, D.G.; Ling, L.C. Flavor Compounds. Volatilities in Vegetable Oil and Oil-Water Mixtures. Estimation of Odor Thresholds. *J. Agric. Food Chem.* **1973**, *21*, 198–201, doi:10.1021/jf60186a029.
136. Piraprez, G.; Hérent, M.-F.; Collin, S. Flavour Retention by Lipids Measured in a Fresh Cheese Matrix. *Food Chemistry* **1998**, *61*, 119–125, doi:10.1016/S0308-8146(97)00120-9.
137. Ammari, A.; Schroen, K. Flavor Retention and Release from Beverages: A Kinetic and Thermodynamic Perspective. *J. Agric. Food Chem.* **2018**, *66*, 9869–9881, doi:10.1021/acs.jafc.8b04459.
138. Seuvre, A.-M.; Philippe, E.; Rochard, S.; Voilley, A. Retention of Aroma Compounds in Food Matrices of Similar Rheological Behaviour and Different Compositions. *Food Chemistry* **2006**, *96*, 104–114, doi:10.1016/j.foodchem.2005.02.014.

139. Roberts, D.D.; Pollien, P.; Watzke, B. Experimental and Modeling Studies Showing the Effect of Lipid Type and Level on Flavor Release from Milk-Based Liquid Emulsions. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 189–195, doi:10.1021/jf025646k.
140. Jouenne, E.; Crouzet, J. Effect of PH on Retention of Aroma Compounds by β -Lactoglobulin. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 1273–1277, doi:10.1021/jf990215w.
141. Guichard, E.; Langourieux, S. Interactions between β -Lactoglobulin and Flavour Compounds. *Food Chemistry* **2000**, *71*, 301–308.
142. Kühn, J.; Considine, T.; Singh, H. Interactions of Milk Proteins and Volatile Flavor Compounds: Implications in the Development of Protein Foods. *Journal of Food Science* **2006**, *71*, R72–R82, doi:10.1111/j.1750-3841.2006.00051.x.
143. Li, Z.; Grün, I.U.; Fernando, L.N. Interaction of Vanillin with Soy and Dairy Proteins in Aqueous Model Systems: A Thermodynamic Study. *Journal of Food Science* **2000**, *65*, 997–1001, doi:10.1111/j.1365-2621.2000.tb09406.x.
144. Damodaran, S.; Kinsella, J.E. Flavor Protein Interactions. Binding of Carbonyls to Bovine Serum Albumin: Thermodynamic and Conformational Effects. *J. Agric. Food Chem.* **1980**, *28*, 567–571, doi:10.1021/jf60229a019.
145. Mottram, D.S.; Szauman-Szumski, C.; Dodson, A. Interaction of Thiol and Disulfide Flavor Compounds with Food Components. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 2349–2351, doi:10.1021/jf960170o.
146. Damodaran, S.; Kinsella, J.E. Interaction of Carbonyls with Soy Protein: Conformational Effects. *J. Agric. Food Chem.* **1981**, *29*, 1253–1257, doi:10.1021/jf00108a038.
147. Damodaran, S.; Kinsella, J.E. Interaction of Carbonyls with Soy Protein: Thermodynamic Effects. *J. Agric. Food Chem.* **1981**, *29*, 1249–1253, doi:10.1021/jf00108a037.
148. Gianelli, M.P.; Flores, M.; Toldrá, F. Interactions of Soluble Peptides and Proteins from Skeletal Muscle on the Release of Volatile Compounds. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 6828–6834, doi:10.1021/jf0303666.
149. Gianelli, M.P.; Flores, M.; Toldrá, F. Interaction of Soluble Peptides and Proteins from Skeletal Muscle with Volatile Compounds in Model Systems As Affected by Curing Agents. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 1670–1677, doi:10.1021/jf040357c.
150. Pérez-Juan, M.; Flores, M.; Toldra, F. Binding of Aroma Compounds by Isolated Myofibrillar Proteins: Effect of Protein Concentration and Conformation. *Food Chemistry* **2007**, *105*, 932–939, doi:10.1016/j.foodchem.2007.04.051.
151. Pérez-Juan, M.; Flores, M.; Toldrá, F. Effect of Pork Meat Proteins on the Binding of Volatile Compounds. *Food Chemistry* **2008**, *108*, 1226–1233, doi:10.1016/j.foodchem.2007.04.037.
152. Anantharamkrishnan, V.; Hoyer, T.; Reineccius, G.A. Covalent Adduct Formation Between Flavor Compounds of Various Functional Group Classes and the Model Protein β -Lactoglobulin. *J. Agric. Food Chem.* **2020**, *68*, 6395–6402, doi:10.1021/acs.jafc.0c01925.
153. Zhang, J.; Kang, D.; Zhang, W.; Lorenzo, J.M. Recent Advantage of Interactions of Protein-Flavor in Foods: Perspective of Theoretical Models, Protein Properties and Extrinsic Factors. *Trends in Food Science & Technology* **2021**, *111*, 405–425, doi:10.1016/j.tifs.2021.02.060.
154. Meynier, A.; Rampon, V.; Dalgalarondo, M.; Genot, C. Hexanal and T-2-Hexenal Form Covalent Bonds with Whey Proteins and Sodium Caseinate in Aqueous Solution. *International Dairy Journal* **2004**, *14*, 681–690, doi:10.1016/j.idairyj.2004.01.003.
155. Lou, X.; Yang, Q.; Sun, Y.; Pan, D.; Cao, J. The Effect of Microwave on the Interaction of Flavour Compounds with G-Actin from Grass Carp (*Catapharyngodon Idella*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2017**, *97*, 3917–3922, doi:10.1002/jsfa.8325.
156. Landy, P.; Druaux, C.; Voilley, A. Retention of Aroma Compounds by Proteins in Aqueous Solution. *Food Chemistry* **1995**, *54*, 387–392, doi:10.1016/0308-8146(95)00069-U.
157. Nawar, W.W. Variables Affecting Composition of Headspace Aroma. *J. Agric. Food Chem.* **1971**, *19*, 1057–1059, doi:10.1021/jf60178a003.

158. Zhou, Q.; Lee, S.-Y.; Cadwallader, K.R. Inverse Gas Chromatographic Evaluation of the Influence of Soy Protein on the Binding of Selected Butter Flavor Compounds in a Wheat Soda Cracker System. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 5516–5520, doi:10.1021/jf060538+.
159. Gu, S.; Dai, W.; Chong, Y.; Lyu, F.; Zhou, X.; Ding, Y. The Binding of Key Fishy Off-Flavor Compounds to Silver Carp Proteins: A Thermodynamic Analysis. *RSC Adv.* **2020**, *10*, 11292–11299, doi:10.1039/D0RA01365J.
160. Shen, H.; Huang, M.; Zhao, M.; Sun, W. Interactions of Selected Ketone Flavours with Porcine Myofibrillar Proteins: The Role of Molecular Structure of Flavour Compounds. *Food Chemistry* **2019**, *298*, 125060, doi:10.1016/j.foodchem.2019.125060.
161. Damodaran, S.; Kinsella, J.E. Binding of Carbonyls to Fish Actomyosin. *J. Agric. Food Chem.* **1983**, *31*, 856–859, doi:10.1021/jf00118a046.
162. Pérez-Juan, M.; Flores, M.; Toldrá, F. Effect of Ionic Strength of Different Salts on the Binding of Volatile Compounds to Porcine Soluble Protein Extracts in Model Systems. *Food Research International* **2007**, *40*, 687–693, doi:10.1016/j.foodres.2006.11.013.
163. Zuba, D.; Parczewski, A.; Reichenbacher, M. Optimization of Solid-Phase Microextraction Conditions for Gas Chromatographic Determination of Ethanol and Other Volatile Compounds in Blood. *Journal of Chromatography B* **2002**, *773*, 75–82, doi:10.1016/S1570-0232(02)00143-5.
164. Wang, K.; Arntfield, S. Effect of Salts and PH on Selected Ketone Flavours Binding to Salt-Extracted Pea Proteins: The Role of Non-Covalent Forces. *Food Research International* **2015**, *77*, doi:10.1016/j.foodres.2015.03.017.
165. Yang, Q.L.; Lou, X.W.; Wang, Y.; Pan, D.D.; Sun, Y.Y.; Cao, J.X. Effect of PH on the Interaction of Volatile Compounds with the Myofibrillar Proteins of Duck Meat. *Poultry Science* **2017**, *96*, 1963–1969, doi:10.3382/ps/pew413.
166. Guo, J.; He, Z.; Wu, S.; Zeng, M.; Chen, J. Binding of Aroma Compounds with Soy Protein Isolate in Aqueous Model: Effect of Preheat Treatment of Soy Protein Isolate. *Food Chemistry* **2019**, *290*, 16–23, doi:10.1016/j.foodchem.2019.03.126.
167. Wang, K.; Arntfield, S.D. Binding of Selected Volatile Flavour Mixture to Salt-Extracted Canola and Pea Proteins and Effect of Heat Treatment on Flavour Binding. *Food Hydrocolloids* **2015**, *43*, 410–417, doi:10.1016/j.foodhyd.2014.06.011.
168. Ragona, L.; Pusterla, F.; Zetta, L.; Monaco, H.L.; Molinari, H. Identification of a Conserved Hydrophobic Cluster in Partially Folded Bovine β -Lactoglobulin at PH 2. *Folding and Design* **1997**, *2*, 281–290, doi:10.1016/S1359-0278(97)00039-4.
169. Brauss, M.S.; Linforth, R.S.T.; Cayeux, I.; Harvey, B.; Taylor, A.J. Altering the Fat Content Affects Flavor Release in a Model Yogurt System. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 2055–2059, doi:10.1021/jf9810719.
170. Andriot, I.; Harrison, M.; Fournier, N.; Guichard, E. Interactions between Methyl Ketones and β -Lactoglobulin: Sensory Analysis, Headspace Analysis, and Mathematical Modeling. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 4246–4251, doi:10.1021/jf991261z.
171. Lewkowska, P.; Dymerski, T.; Namieśnik, J. Use of Sensory Analysis Methods to Evaluate the Odor of Food and Outside Air. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* **2015**, *45*, 2208–2244, doi:10.1080/10643389.2015.1010429.
172. Piggott, J.R.; Simpson, S.J.; Williams, S.A.R. Sensory Analysis. *International Journal of Food Science & Technology* **1998**, *33*, 7–12, doi:https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.1998.00154.x.
173. Watts, B.M.; Ylimaki, G.L.; Jeffery, L.E.; Elias, L.G. In *Basic sensory methods for food evaluation*; Ottawa, Ont., Canada, 1989; p. Chap. 7 pp 57-95 ISBN 978-0-88936-563-6.
174. Varela, P.; Ares, G. Sensory Profiling, the Blurred Line between Sensory and Consumer Science. A Review of Novel Methods for Product Characterization. *Food Research International* **2012**, *48*, 893–908, doi:10.1016/j.foodres.2012.06.037.

175. Rodrigues, J.F.; Mangia, B.A.; e Silva, J.G.; Lacorte, G.A.; Coimbra, L.O.; Esmerino, E.A.; Freitas, M.Q.; Pinheiro, A.C.M.; da Cruz, A.G. Sorting Task as a Tool to Elucidate the Sensory Patterns of Artisanal Cheeses. *Journal of Sensory Studies* **2020**, *35*, e12562, doi:10.1111/joss.12562.
176. Slaghenaufi, D.; Luzzini, G.; Samaniego Solis, J.; Forte, F.; Ugliano, M. Two Sides to One Story—Aroma Chemical and Sensory Signature of Lugana and Verdicchio Wines. *Molecules* **2021**, *26*, 2127, doi:10.3390/molecules26082127.
177. Kessinger, J.; Earnhart, G.; Hamilton, L.; Phetxumphou, K.; Neill, C.; Stewart, A.C.; Lahne, J. Exploring Perceptions and Categorization of Virginia Hard Ciders through the Application of Sorting Tasks. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **2021**, *79*, 187–200, doi:10.1080/03610470.2020.1843927.
178. Li, Y.; Zhou, W.; Cao, Y.; Gong, X.; Li, J.; Lu, X.; Dai, Y. Analysis of Volatile Components of Tilapia Enzymolysis Solution after Different Deodorization Treatments. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* **2020**, *571*, 012121, doi:10.1088/1755-1315/571/1/012121.
179. Park, S.-K.; Jo, D.-M.; Yu, D.; Khan, F.; Lee, Y.B.; Kim, and Y.-M. Reduction of Trimethylamine Off-Odor by Lactic Acid Bacteria Isolated from Korean Traditional Fermented Food and Their In Situ Application. **2020**, *30*, 1510–1515, doi:10.4014/jmb.2005.05007.
180. Blogoslawski, W.J.; Stewart, M.E. Some Ozone Applications in Seafood. *Ozone: Science & Engineering* **2011**, *33*, 368–373, doi:10.1080/01919512.2011.602006.
181. Gelman, A.; Sachs, O.; Khanin, Y.; Drabkin, V.; Glatman, L. Effect of Ozone Pretreatment on Fish Storage Life at Low Temperatures. *Journal of Food Protection* **2005**, *68*, 778–784, doi:10.4315/0362-028X-68.4.778.
182. Aponte, M.; Anastasio, A.; Marrone, R.; Mercogliano, R.; Peruzzy, M.F.; Murru, N. Impact of Gaseous Ozone Coupled to Passive Refrigeration System to Maximize Shelf-Life and Quality of Four Different Fresh Fish Products. *LWT* **2018**, *93*, 412–419, doi:10.1016/j.lwt.2018.03.073.
183. Schrader, K.K.; Davidson, J.W.; Rimando, A.M.; Summerfelt, S.T. Evaluation of Ozonation on Levels of the Off-Flavor Compounds Geosmin and 2-Methylisoborneol in Water and Rainbow Trout *Oncorhynchus Mykiss* from Recirculating Aquaculture Systems. *Aquacultural Engineering* **2010**, *43*, 46–50, doi:10.1016/j.aquaeng.2010.05.003.
184. Liu, S.; Courtwright, C.; Wang, Y.; Hanson, T.R. Chemical Treatments to Reduce Off-Flavor in Farm-Raised Channel Catfish (*Ictalurus Punctatus*) Fillet. *Journal of Food Processing and Preservation* **2017**, *41*, e12886, doi:10.1111/jfpp.12886.
185. Fan, W.; Chi, Y.; Zhang, S. The Use of a Tea Polyphenol Dip to Extend the Shelf Life of Silver Carp (*Hypophthalmichthys Molitrix*) during Storage in Ice. *Food Chemistry* **2008**, *108*, 148–153, doi:10.1016/j.foodchem.2007.10.057.
186. Hammer, M.; Schieberle, P. Model Studies on the Key Aroma Compounds Formed by an Oxidative Degradation of ω -3 Fatty Acids Initiated by Either Copper(II) Ions or Lipoxygenase. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 10891–10900, doi:10.1021/jf403827p.
187. Jeevan Kumar, S.P.; Vijay Kumar, G.; Dash, A.; Scholz, P.; Banerjee, R. Sustainable Green Solvents and Techniques for Lipid Extraction from Microalgae: A Review. *Algal Research* **2017**, *21*, 138–147, doi:10.1016/j.algal.2016.11.014.
188. Park, J.-Y.; Lee, M.-K.; Uddin, S.; Chun, B.-S. Removal of Off-Flavors and Isolation of Fatty Acids from Boiled Anchovies Using Supercritical Carbon Dioxide. *Biotechnol Bioproc E* **2008**, *13*, 298, doi:10.1007/s12257-007-0024-x.
189. Sun, L.-M.; Meunier, F.; Bordu, N.; Manero, M.-H. Adsorption - Aspects théoriques Available online: <https://www-techniques-ingenieur-fr.ezproxy.ipb.fr/base-documentaire/42332210-operations-unitaires-extractions-fluide-fluide-et-fluide-solide/download/j2730/adsorption.html> (accessed on 6 November 2018).
190. Chung, K.-H.; Lee, K.-Y. Removal of Trimethylamine by Adsorption over Zeolite Catalysts and Deodorization of Fish Oil. *Journal of Hazardous Materials* **2009**, *172*, 922–927, doi:10.1016/j.jhazmat.2009.07.081.

191. Güner, M.; Yılmaz, E.; Yüceer, Y. Off-Odor Removal from Fish Oil by Adsorbent Treatment with Selected Metal-Organic Frameworks. *Flavour and Fragrance Journal* **2019**, *34*, 163–174, doi:<https://doi.org/10.1002/ffj.3489>.
192. Bazinet, L. Chap 16. In *Concepts de génie alimentaire : procédés associés, application à la conservation et transformation des aliments*; Montréal, 2019; p. Chap. 16, pp. 509–578.
193. Vandanjon, L.; Cros, S.; Jaouen, P.; Quéméneur, F.; Bourseau, P. Recovery by Nanofiltration and Reverse Osmosis of Marine Flavours from Seafood Cooking Waters. *Desalination* **2002**, *144*, 379–385, doi:[10.1016/S0011-9164\(02\)00347-8](https://doi.org/10.1016/S0011-9164(02)00347-8).
194. Jarrault, C.; Dornier, M.; Labatut, M.-L.; Giampaoli, P.; Lameloise, M.-L. Coupling Nanofiltration and Osmotic Evaporation for the Recovery of a Natural Flavouring Concentrate from Shrimp Cooking Juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **2017**, *43*, 182–190, doi:[10.1016/j.ifset.2017.07.035](https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.07.035).
195. Walha, K.; Ben Amar, R.; Massé, A.; Bourseau, P.; Cardinal, M.; Cornet, J.; Prost, C.; Jaouen, P. Aromas Potentiality of Tuna Cooking Juice Concentrated by Nanofiltration. *LWT - Food Science and Technology* **2011**, *44*, 153–157, doi:[10.1016/j.lwt.2010.05.035](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.035).
196. Cros, S.; Lignot, B.; Bourseau, P.; Jaouen, P. Reverse Osmosis for the Production of Aromatic Concentrates from Mussel Cooking Juices: A Technical Assessment. *Desalination* **2005**, *180*, 263–269, doi:[10.1016/j.desal.2005.01.008](https://doi.org/10.1016/j.desal.2005.01.008).
197. Bazinet, L. Chap 17. In *Concepts de génie alimentaire : procédés associés, application à la conservation et transformation des aliments*; Montréal, 2019; p. Chap. 17, pp. 579–628.
198. Doyen, A.; Beaulieu, L.; Saucier, L.; Pouliot, Y.; Bazinet, L. Demonstration of in Vitro Anticancer Properties of Peptide Fractions from a Snow Crab By-Products Hydrolysate after Separation by Electrodialysis with Ultrafiltration Membranes. *Separation and Purification Technology* **2011**, *78*, 321–329, doi:[10.1016/j.seppur.2011.01.037](https://doi.org/10.1016/j.seppur.2011.01.037).
199. Chang, G.W.; Chang, W.L.; Lew, K.B.K. Trimethylamine-Specific Electrode for Fish Quality Control. *Journal of Food Science* **1976**, *41*, 723–724, doi:[10.1111/j.1365-2621.1976.tb00711_41_3.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1976.tb00711_41_3.x).
200. Lin, C.Y.; Chiang, B.H. Desalting and Recovery of Flavour Compounds from Salted Shrimp Processing Waste Water by Membrane Processes. *International Journal of Food Science & Technology* **1993**, *28*, 453–460, doi:[10.1111/j.1365-2621.1993.tb01294.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb01294.x).
201. García-Torres, R.; Ponagandla, N.R.; Rouseff, R.L.; Goodrich-Schneider, R.M.; Reyes-De-Corcuera, J.I. Effects of Dissolved Oxygen in Fruit Juices and Methods of Removal. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **2009**, *8*, 409–423, doi:[10.1111/j.1541-4337.2009.00090.x](https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00090.x).
202. Durand, R.; Pellerin, G.; Thibodeau, J.; Fraboulet, E.; Marette, A.; Bazinet, L. Screening for Metabolic Syndrome Application of a Herring By-Product Hydrolysate after Its Separation by Electrodialysis with Ultrafiltration Membrane and Identification of Novel Anti-Inflammatory Peptides. *Separation and Purification Technology* **2020**, *235*, 116205, doi:[10.1016/j.seppur.2019.116205](https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.116205).
203. Yarnpakdee, S.; Benjakul, S.; Nalinanon, S.; Kristinsson, H.G. Lipid Oxidation and Fishy Odour Development in Protein Hydrolysate from Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) Muscle as Affected by Freshness and Antioxidants. *Food Chemistry* **2012**, *132*, 1781–1788, doi:[10.1016/j.foodchem.2011.11.139](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.139).
204. Sghaier, L.; Vial, J.; Sassiati, P.; Thiebaut, D.; Watiez, M.; Breton, S.; Rutledge, D.N.; Cordella, C.B.Y. Analysis of Target Volatile Compounds Related to Fishy Off-Flavor in Heated Rapeseed Oil: A Comparative Study of Different Headspace Techniques. *European Journal of Lipid Science and Technology* **2016**, *118*, 906–918, doi:[10.1002/ejlt.201500088](https://doi.org/10.1002/ejlt.201500088).
205. Cros, S.; Lignot, B.; Razafintsalama, C.; Jaouen, P.; Bourseau, P. Electrodialysis Desalination and Reverse Osmosis Concentration of an Industrial Mussel Cooking Juice: Process Impact on Pollution Reduction and on Aroma Quality. *Journal of Food Science* **2004**, *69*, C435–C442, doi:[10.1111/j.1365-2621.2004.tb10985.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb10985.x).

206. Hirano, T.; Kurosawa, H.; Nakamura, K.; Amano, Y. Simultaneous Removal of Hydrogen Sulfide and Trimethylamine by a Bacterial Deodorant. *Journal of Fermentation and Bioengineering* **1996**, *81*, 337–342, doi:10.1016/0922-338X(96)80587-3.
207. Dufton, G.; Mikhaylin, S.; Gaaloul, S.; Bazinet, L. Systematic Study of the Impact of Pulsed Electric Field Parameters (Pulse/Pause Duration and Frequency) on ED Performances during Acid Whey Treatment. *Membranes* **2020**, *10*, 14, doi:10.3390/membranes10010014.
208. Horwitz, W.; Chichilo, P.; Reynolds, H. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*; Association of Official Analytical Chemists.; Washington, DC, USA, 1970;
209. Lemay, N.; Mikhaylin, S.; Bazinet, L. Voltage Spike and Electroconvective Vortices Generation during Electrodialysis under Pulsed Electric Field: Impact on Demineralization Process Efficiency and Energy Consumption. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **2019**, *52*, 221–231, doi:10.1016/j.ifset.2018.12.004.
210. Zhou, X.; Chong, Y.; Ding, Y.; Gu, S.; Liu, L. Determination of the Effects of Different Washing Processes on Aroma Characteristics in Silver Carp Mince by MMSE–GC–MS, e-Nose and Sensory Evaluation. *Food Chemistry* **2016**, *207*, 205–213, doi:10.1016/j.foodchem.2016.03.026.
211. Peinado, I.; Miles, W.; Koutsidis, G. Odour Characteristics of Seafood Flavour Formulations Produced with Fish By-Products Incorporating EPA, DHA and Fish Oil. *Food Chemistry* **2016**, *212*, 612–619, doi:10.1016/j.foodchem.2016.06.023.
212. daCosta, K.-A.; Vrbanac, J.J.; Zeisel, S.H. The Measurement of Dimethylamine, Trimethylamine, and Trimethylamine N-Oxide Using Capillary Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Analytical Biochemistry* **1990**, *187*, 234–239, doi:10.1016/0003-2697(90)90449-J.
213. Cha, Y.-J. Volatile Compounds in Oyster Hydrolysate Produced by Commercial Protease. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* **1995**, *24*, 420–426.
214. Iglesias, J.; Medina, I.; Bianchi, F.; Careri, M.; Mangia, A.; Musci, M. Study of the Volatile Compounds Useful for the Characterisation of Fresh and Frozen-Thawed Cultured Gilthead Sea Bream Fish by Solid-Phase Microextraction Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Food Chemistry* **2009**, *115*, 1473–1478, doi:10.1016/j.foodchem.2009.01.076.
215. Persico, M.; Mikhaylin, S.; Doyen, A.; Firdaous, L.; Nikonenko, V.; Pismenskaya, N.; Bazinet, L. Prevention of Peptide Fouling on Ion-Exchange Membranes during Electrodialysis in Overlimiting Conditions. *Journal of Membrane Science* **2017**, *543*, 212–221, doi:10.1016/j.memsci.2017.08.039.
216. Tanaka, Y. Water Dissociation Reaction Generated in an Ion Exchange Membrane. *Journal of Membrane Science* **2010**, *350*, 347–360, doi:10.1016/j.memsci.2010.01.010.
217. Dufton, G.; Mikhaylin, S.; Gaaloul, S.; Bazinet, L. How Electrodialysis Configuration Influences Acid Whey Deacidification and Membrane Scaling. *Journal of Dairy Science* **2018**, *101*, 7833–7850, doi:10.3168/jds.2018-14639.
218. Lemay, N.; Mikhaylin, S.; Mareev, S.; Pismenskaya, N.; Nikonenko, V.; Bazinet, L. How Demineralization Duration by Electrodialysis under High Frequency Pulsed Electric Field Can Be the Same as in Continuous Current Condition and That for Better Performances? *Journal of Membrane Science* **2020**, *603*, 117878, doi:10.1016/j.memsci.2020.117878.
219. Zhang, W.; Miao, M.; Pan, J.; Sotto, A.; Shen, J.; Gao, C.; der Bruggen, B.V. Separation of Divalent Ions from Seawater Concentrate to Enhance the Purity of Coarse Salt by Electrodialysis with Monovalent-Selective Membranes. *Desalination* **2017**, *411*, 28–37, doi:10.1016/j.desal.2017.02.008.
220. Dufton, G.; Mikhaylin, S.; Gaaloul, S.; Bazinet, L. Positive Impact of Pulsed Electric Field on Lactic Acid Removal, Demineralization and Membrane Scaling during Acid Whey Electrodialysis. *Int J Mol Sci* **2019**, *20*, doi:10.3390/ijms20040797.

221. Persico, M.; Mikhaylin, S.; Doyen, A.; Firdaous, L.; Hammami, R.; Chevalier, M.; Flahaut, C.; Dhulster, P.; Bazinet, L. Formation of Peptide Layers and Adsorption Mechanisms on a Negatively Charged Cation-Exchange Membrane. *Journal of Colloid and Interface Science* **2017**, *508*, 488–499, doi:10.1016/j.jcis.2017.08.029.
222. Kattan Read, O.M.; Gironès, M.; Nijmeijer, K. Separation of Complex Mixtures of Amino Acids for Biorefinery Applications Using Electrodialysis. *Journal of Membrane Science* **2013**, *429*, 338–348, doi:10.1016/j.memsci.2012.11.053.
223. Persico, M.; Mikhaylin, S.; Doyen, A.; Firdaous, L.; Hammami, R.; Bazinet, L. How Peptide Physicochemical and Structural Characteristics Affect Anion-Exchange Membranes Fouling by a Tryptic Whey Protein Hydrolysate. *Journal of Membrane Science* **2016**, *520*, 914–923, doi:10.1016/j.memsci.2016.08.030.
224. Pismenskaya, N.; Nikonenko, V.; Volodina, E.; Pourcelly, G. Electrotransport of Weak-Acid Anions through Anion-Exchange Membranes. *Desalination* **2002**, *147*, 345–350, doi:10.1016/S0011-9164(02)00607-0.
225. Eliseeva, T.V.; Shaposhnik, V.A. Effects of Circulation and Facilitated Electromigration of Amino Acids in Electrodialysis with Ion-Exchange Membranes. *Russ J Electrochem* **2000**, *36*, 64–67, doi:10.1007/BF02757798.
226. Langevin, M.-E.; Bazinet, L. Ion-Exchange Membrane Fouling by Peptides: A Phenomenon Governed by Electrostatic Interactions. *Journal of Membrane Science* **2011**, *369*, 359–366, doi:10.1016/j.memsci.2010.12.031.
227. Chopin, C.; Kone, M.; Serot, T. Study of the Interaction of Fish Myosin with the Products of Lipid Oxidation: The Case of Aldehydes. *Food Chemistry* **2007**, *105*, 126–132, doi:10.1016/j.foodchem.2007.03.058.
228. Velasquez, M.T.; Ramezani, A.; Manal, A.; Raj, D.S. Trimethylamine N-Oxide: The Good, the Bad and the Unknown. *Toxins (Basel)* **2016**, *8*, doi:10.3390/toxins8110326.
229. Bjørndal, B.; Burri, L.; Wergedahl, H.; Svoldal, A.; Bohov, P.; Berge, R.K. Dietary Supplementation of Herring Roe and Milt Enhances Hepatic Fatty Acid Catabolism in Female Mice Transgenic for HTNF α . *Eur J Nutr* **2012**, *51*, 741–753, doi:10.1007/s00394-011-0254-8.
230. Wang, Y.; Zhu, F.; Han, F.; Wang, H. Purification and Characterization of Antioxidative Peptides from Salmon Protamine Hydrolysate. *Journal of Food Biochemistry* **2008**, *32*, 654–671, doi:10.1111/j.1745-4514.2008.00190.x.
231. Todeschini, S.; Perreault, V.; Goulet, C.; Bouchard, M.; Dubé, P.; Boutin, Y.; Bazinet, L. Assessment of the Performance of Electrodialysis in the Removal of the Most Potent Odor-Active Compounds of Herring Milt Hydrolysate: Focus on Ion-Exchange Membrane Fouling and Water Dissociation as Limiting Process Conditions. *Membranes* **2020**, *10*, 127–127, doi:10.3390/membranes10060127.
232. Baltussen, E.; Sandra, P.; David, F.; Cramers, C. Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), a Novel Extraction Technique for Aqueous Samples: Theory and Principles. *Journal of Microcolumn Separations* **1999**, *11*, 737–747, doi:10.1002/(SICI)1520-667X(1999)11:10<737::AID-MCS7>3.0.CO;2-4.
233. Lancas, F.M.; Queiroz, M.E.C.; Grossi, P.; Olivares, I.R.B. Recent Developments and Applications of Stir Bar Sorptive Extraction. *Journal of Separation Science* **2009**, *32*, 813–824, doi:10.1002/jssc.200800669.
234. Agarwal, D.; Mui, L.; Aldridge, E.; Mottram, R.; McKinney, J.; Fisk, I.D. The Impact of Nitrogen Gas Flushing on the Stability of Seasonings: Volatile Compounds and Sensory Perception of Cheese & Onion Seasoned Potato Crisps. *Food Funct.* **2018**, *9*, 4730–4741, doi:10.1039/C8FO00817E.
235. Boraphech, P.; Thiravetyan, P. Trimethylamine (Fishy Odor) Adsorption by Biomaterials: Effect of Fatty Acids, Alkanes, and Aromatic Compounds in Waxes. *Journal of Hazardous Materials* **2015**, *284*, 269–277, doi:10.1016/j.jhazmat.2014.11.014.

236. Zhou, S.; Decker, E.A. Ability of Carnosine and Other Skeletal Muscle Components To Quench Unsaturated Aldehydic Lipid Oxidation Products. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 51–55, doi:10.1021/jf980780j.
237. Zhou, S.; Decker, E.A. Ability of Amino Acids, Dipeptides, Polyamines, and Sulfhydryls To Quench Hexanal, a Saturated Aldehydic Lipid Oxidation Product. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 1932–1936, doi:10.1021/jf980939s.
238. Shimoda, M.; Peralta, R.R.; Osajima, Y. Headspace Gas Analysis of Fish Sauce. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 3601–3605, doi:10.1021/jf960345u.
239. Venkateswarlu, G.; Let, M.B.; Meyer, A.S.; Jacobsen, C. Modeling the Sensory Impact of Defined Combinations of Volatile Lipid Oxidation Products on Fishy and Metallic Off-Flavors. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 1635–1641, doi:10.1021/jf0351321.
240. Chalamaiah, M.; Dinesh kumar, B.; Hemalatha, R.; Jyothirmayi, T. Fish Protein Hydrolysates: Proximate Composition, Amino Acid Composition, Antioxidant Activities and Applications: A Review. *Food Chemistry* **2012**, *135*, 3020–3038, doi:10.1016/j.foodchem.2012.06.100.
241. Venkatesan, J.; Anil, S.; Kim, S.-K.; Shim, M.S. Marine Fish Proteins and Peptides for Cosmeceuticals: A Review. *Mar Drugs* **2017**, *15*, doi:10.3390/md15050143.
242. Durand, R.; Pellerin, G.; Thibodeau, J.; Fraboulet, E.; Marette, A.; Bazinet, L. Screening for Metabolic Syndrome Application of a Herring By-Product Hydrolysate after Its Separation by Electrodialysis with Ultrafiltration Membrane and Identification of Novel Anti-Inflammatory Peptides. *Separation and Purification Technology* **2020**, *235*, 116205, doi:10.1016/j.seppur.2019.116205.
243. Wang, Y.; Nair, S.; Gagnon, J. Herring Milt and Herring Milt Protein Hydrolysate Reduce Weight Gain and Improve Insulin Sensitivity and Pancreatic Beta-Cell Function in Diet-Induced Obese Mice. *Curr Dev Nutr* **2020**, *4*, 1699, doi:10.1093/cdn/nzaa063_097.
244. Seibel, B.A.; Walsh, P.J. Trimethylamine Oxide in Marine Animals. *10*.
245. Seo, Y.-S.; Bae, H.-N.; Eom, S.-H.; Lim, K.-S.; Yun, I.-H.; Chung, Y.-H.; Jeon, J.-M.; Kim, H.-W.; Lee, M.-S.; Lee, Y.-B.; et al. Removal of Off-Flavors from Sea Tangle (*Laminaria Japonica*) Extract by Fermentation with *Aspergillus Oryzae*. *Bioresource Technology* **2012**, *121*, 475–479, doi:10.1016/j.biortech.2012.07.007.
246. Srinivasan, R.; Sorial, G.A. Treatment of Taste and Odor Causing Compounds 2-Methyl Isoborneol and Geosmin in Drinking Water: A Critical Review. *Journal of Environmental Sciences* **2011**, *23*, 1–13, doi:10.1016/S1001-0742(10)60367-1.
247. Todeschini, S.; Perreault, V.; Goulet, C.; Bouchard, M.; Dubé, P.; Boutin, Y.; Bazinet, L. Development of a New Deodorization Method of Herring Milt Hydrolysate: Impacts of PH, Stirring with Nitrogen and Deaerator Treatment on the Odorous Content. *Foods* **2021**, *10*, 884, doi:10.3390/foods10040884.
248. Tappi, S.; De Aguiar Saldanha Pinheiro, A.C.; Mercatante, D.; Picone, G.; Soglia, F.; Rodriguez-Estrada, M.T.; Petracci, M.; Capozzi, F.; Rocculi, P. Quality Changes during Frozen Storage of Mechanical-Separated Flesh Obtained from an Underutilized Crustacean. *Foods* **2020**, *9*, doi:10.3390/foods9101485.
249. Sotelo, C.G.; Gallardo, J.M.; Piñeiro, C.; Pérez-Martin, R. Trimethylamine Oxide and Derived Compounds' Changes during Frozen Storage of Hake (*Merluccius Merluccius*). *Food Chemistry* **1995**, *53*, 61–65, doi:10.1016/0308-8146(95)95787-7.
250. Wu, H. Influence of Partial Replacement of NaCl with KCl on Profiles of Volatile Compounds in Dry-Cured Bacon during Processing. *Food Chemistry* **2015**, *9*.
251. Vlachy, N.; Jagoda-Cwiklik, B.; Vácha, R.; Touraud, D.; Jungwirth, P.; Kunz, W. Hofmeister Series and Specific Interactions of Charged Headgroups with Aqueous Ions. *Advances in Colloid and Interface Science* **2009**, *146*, 42–47, doi:10.1016/j.cis.2008.09.010.

252. Andriot, I.; Marin, I.; Feron, G.; Relkin, P.; Guichard, E. Binding of Benzaldehyde by β -Lactoglobulin, by Static Headspace and High Performance Liquid Chromatography in Different Physico-Chemical Conditions. *Lait* **1999**, *79*, 577–586, doi:10.1051/lait:1999647.
253. Jo, D.-M.; Park, S.-K.; Khan, F.; Kang, M.-G.; Lee, J.-H.; Kim, Y.-M. An Approach to Extend the Shelf Life of Ribbonfish Fillet Using Lactic Acid Bacteria Cell-Free Culture Supernatant. *Food Control* **2021**, *123*, 107731, doi:10.1016/j.foodcont.2020.107731.
254. Cha, Y.J.; Cadwallader, K.R. Aroma-Active Compounds in Skipjack Tuna Sauce. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 1123–1128, doi:10.1021/jf970380g.
255. Bonneau, A.; Boulanger, R.; Lebrun, M.; Maraval, I.; Valette, J.; Guichard, É.; Gunata, Z. Impact of Fruit Texture on the Release and Perception of Aroma Compounds during in Vivo Consumption Using Fresh and Processed Mango Fruits. *Food Chemistry* **2018**, *239*, 806–815, doi:10.1016/j.foodchem.2017.07.017.
256. Feyzi, S.; Varidi, M.; Housaindokht, M.R.; Es'haghi, Z.; Romano, R.; Piombino, P.; Genovese, A. A Study on Aroma Release and Perception of Saffron Ice Cream Using In-Vitro and in-Vivo Approaches. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **2020**, *65*, 102455, doi:10.1016/j.ifset.2020.102455.
257. van Ruth, S.M.; Roozen, J.P. Influence of Mastication and Saliva on Aroma Release in a Model Mouth System. *Food Chemistry* **2000**, *71*, 339–345, doi:10.1016/S0308-8146(00)00186-2.
258. Friel, E.N.; Taylor, A.J. Effect of Salivary Components on Volatile Partitioning from Solutions. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 3898–3905, doi:10.1021/jf010371e.
259. Frank, D.; Appelqvist, I.; Piyasiri, U.; Wooster, T.J.; Delahunty, C. Proton Transfer Reaction Mass Spectrometry and Time Intensity Perceptual Measurement of Flavor Release from Lipid Emulsions Using Trained Human Subjects. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 4891–4903, doi:10.1021/jf104376b.
260. Muñoz-González, C.; Rodríguez-Bencomo, J.J.; Moreno-Arribas, M.V.; Pozo-Bayón, M.Á. Feasibility and Application of a Retronasal Aroma-Trapping Device to Study in Vivo Aroma Release during the Consumption of Model Wine-Derived Beverages. *Food Science & Nutrition* **2014**, *2*, 361–370, doi:https://doi.org/10.1002/fsn3.111.
261. Sabeena Farvin, K.H.; Andersen, L.L.; Nielsen, H.H.; Jacobsen, C.; Jakobsen, G.; Johansson, I.; Jessen, F. Antioxidant Activity of Cod (*Gadus Morhua*) Protein Hydrolysates: In Vitro Assays and Evaluation in 5% Fish Oil-in-Water Emulsion. *Food Chemistry* **2014**, *149*, 326–334, doi:10.1016/j.foodchem.2013.03.075.
262. Nazlić, M.; Kremer, D.; Grubešić, R.J.; Soldo, B.; Vuko, E.; Stabentheiner, E.; Ballian, D.; Bogunić, F.; Dunkić, V. Endemic *Veronica Saturejoides* Vis. Ssp. *Saturejoides*—Chemical Composition and Antioxidant Activity of Free Volatile Compounds. *Plants* **2020**, *9*, 1646, doi:10.3390/plants9121646.
263. Amorati, R.; Foti, M.C.; Valgimigli, L. Antioxidant Activity of Essential Oils. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 10835–10847, doi:10.1021/jf403496k.
264. Fons, F.; Froissard, D.; Morel, S.; Bessièrre, J.-M.; Buatois, B.; Sol, V.; Fruchier, A.; Rapior, S. Pteridaceae Fragrant Resource and Bioactive Potential: A Mini-Review of Aroma Compounds. *Natural Product Communications* **2018**, *13*, 1934578X1801300531, doi:10.1177/1934578X1801300531.
265. Ren, J.; Zhao, M.; Shi, J.; Wang, J.; Jiang, Y.; Cui, C.; Kakuda, Y.; Xue, S.J. Purification and Identification of Antioxidant Peptides from Grass Carp Muscle Hydrolysates by Consecutive Chromatography and Electrospray Ionization-Mass Spectrometry. *Food Chemistry* **2008**, *108*, 727–736, doi:10.1016/j.foodchem.2007.11.010.
266. Zhong, S.; Ma, C.; Lin, Y.C.; Luo, Y. Antioxidant Properties of Peptide Fractions from Silver Carp (*Hypophthalmichthys Molitrix*) Processing by-Product Protein Hydrolysates Evaluated by Electron Spin Resonance Spectrometry. *Food Chemistry* **2011**, *126*, 1636–1642, doi:10.1016/j.foodchem.2010.12.046.

267. Zulueta, A.; Esteve, M.J.; Frígola, A. ORAC and TEAC Assays Comparison to Measure the Antioxidant Capacity of Food Products. *Food Chemistry* **2009**, *114*, 310–316, doi:10.1016/j.foodchem.2008.09.033.
268. Samaranayaka, A.G.P.; Li-Chan, E.C.Y. Autolysis-Assisted Production of Fish Protein Hydrolysates with Antioxidant Properties from Pacific Hake (*Merluccius Productus*). *Food Chemistry* **2008**, *107*, 768–776, doi:10.1016/j.foodchem.2007.08.076.
269. Samaranayaka, A.G.P.; Kitts, D.D.; Li-Chan, E.C.Y. Antioxidative and Angiotensin-I-Converting Enzyme Inhibitory Potential of a Pacific Hake (*Merluccius Productus*) Fish Protein Hydrolysate Subjected to Simulated Gastrointestinal Digestion and Caco-2 Cell Permeation. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 1535–1542, doi:10.1021/jf9033199.
270. Halldorsdottir, S.M.; Sveinsdottir, H.; Gudmundsdottir, A.; Thorkelsson, G.; Kristinsson, H.G. High Quality Fish Protein Hydrolysates Prepared from By-Product Material with *Fucus Vesiculosus* Extract. *Journal of Functional Foods* **2014**, *9*, 10–17, doi:10.1016/j.jff.2014.04.009.
271. Paško, P.; Bartoń, H.; Zagrodzki, P.; Gorinstein, S.; Folta, M.; Zachwieja, Z. Anthocyanins, Total Polyphenols and Antioxidant Activity in Amaranth and Quinoa Seeds and Sprouts during Their Growth. *Food Chemistry* **2009**, *115*, 994–998, doi:10.1016/j.foodchem.2009.01.037.
272. Theodore, A.E.; Raghavan, S.; Kristinsson, H.G. Antioxidative Activity of Protein Hydrolysates Prepared from Alkaline-Aided Channel Catfish Protein Isolates. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 7459–7466, doi:10.1021/jf800185f.
273. Girgih, A.T.; He, R.; Hasan, F.M.; Udenigwe, C.C.; Gill, T.A.; Aluko, R.E. Evaluation of the in Vitro Antioxidant Properties of a Cod (*Gadus Morhua*) Protein Hydrolysate and Peptide Fractions. *Food Chemistry* **2015**, *173*, 652–659, doi:10.1016/j.foodchem.2014.10.079.