

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة – الحراش – الجزائر

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ELHARRACH – ALGER

MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE MAGISTERE EN SCIENCES VETERINAIRES
Option : Hygiène et sécurité alimentaire

Thème :

**CORRELATION ENTRE L'ANALYSE ORGANOLEPTIQUE ET CHIMIQUE
(TENEUR EN AZOTE BASIQUE VOLATIL TOTAL ET TRIMETHYLAMINE)
UTILISES POUR L'APPRECIATION DE LA QUALITE DE LA SARDINE
(*Sardina pilchardus*)**

Présenté par :

Dr. Mokrani Djamal

Jury :

Président :	Dr. Khelef, D.	Maître de conférences : E.N.S.V Alger.
Promoteur :	Dr. Oumouna, M.	Maître de conférences : ISV Blida
Co promoteur :	Dr. Bendeddouche, B.	Maître de conférences : E.N.S.V Alger.
Examineur :	Pr. El hadef el okki, S.	Professeur : ISV Constantine.
Examineur :	Dr. Hamdi, T.M.	Maître de conférences : E.N.S.V Alger.
Examineur :	Dr. Harhoura, K.	Chargé de cours : E.N.S.V Alger.

Année universitaire 2008/2009

À la mémoire de mon -père, Essaid (Dadda Moumouh)

À ma -mère : Yemma Lohra

REMERCIEMENTS

J'exprime mes vifs remerciements au DR **Oumouna Mustapha**, le Promoteur de ce mémoire, pour avoir dirigé et orienté mes recherches avec une rigueur scientifique et une grande simplicité qui lui sont propres. Notre meilleure gratitude et inestimable respect.

« Sincère reconnaissance »

Je tiens à remercier DR **Beneddouch Badis**, le Co-promoteur de ce mémoire, pour ses services continus, ses encouragements, son encadrement, ses compétences scientifiques et son soutien constant. Toute notre gratitude et notre estime.

« Hommage pour son humanisme prodigieux »

Je remercie Monsieur **Khelef, D.**, Maître de conférences à l'ENSV d'Alger, pour avoir accepté d'assurer la présidence de mon jury.

« Meilleure gratitude »

Je remercie tous particulièrement Monsieur **El hadef el Okki, S.**, Professeur à ISV Constantine, Monsieur **Hamdi, T.M.**, Maître de conférences à l'ENSV d'Alger, ainsi que Monsieur **Harhoura, K.**, Chargé de cours à l'ENSV d'Alger, , qui ont accepté de juger ce travail et d'en être les examinateurs.

« Hommages respectueux »

Je remercie vivement et avec un profond respect l'homme qui a été le premier à guider nos pas au niveau du Ministère de la Pêche et des Ressources Halieutiques, Monsieur **Ben Segueni, Nadir.**, Pour toutes les facilités et les encouragements qu'il n'a cessé de prodiguer pour le bon aboutissement de ce travail, qu'il soit assuré de notre estime la plus profonde et de notre indéfectible attachement.

« Hommage respectueux »

Mes sincère remerciements vont également au **Colonel Djebairia**, directeur de laboratoire central de l'intendance de l'armée nationale populaire, et à tout le personnel du laboratoire (**M^{elle} Haouam, N.** ingénieur en génie biologie, **Capitaine Lakehal, A.**, chef service de la biochimie et les autres) pour leur accueil chaleureux et leur collaboration.

A mon ami de la Tunisie Dr Ezzaher, Salah (post doc au niveau de la Suède en chimie pharmaceutique), pour son généreuse aide documentaire.

Madame Keromnes, J. Maître de conférence à l'ESMISAB Brest pour son soutien quotidien.

Je remercie également tous ceux qui, d'une manière ou d'une autres, ont contribué à la réalisation de ce mémoire, particulièrement M^{me} Zénia chargé de cours à l'ENSV d'Alger, MR Boudrioua, chef d'antenne de pêche de Zemmouri, Lounes R, armateur du navire el Hadj Amar, Ben Bouabdellah Fahima et Bouhamar Ahmed de la direction de la pêche et des ressources halieutiques de Boumerdes.

Je remercie ensuite, ma mère et mon épouse pour leur soutien quotidien, mes frères, mes sœurs, mes beaux-parents, mes belles-sœurs, mes beaux-frères pour leur appui moral.

Je souhaite remercier mes amis, Ali Abdeslam et Abdelhak Ben Salem de khémis el khechna pour leurs encouragements.

Toutes mes reconnaissances pour ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail, ainsi que ceux qui prendront la peine de le juger.

« **Sincères remerciements** »

TABLE DES MATIERES

Pages

Introduction	1
---------------------------	----------

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Composition du poisson au moment de la capture.....	2
A. Les lipides.....	2
1. Teneur en lipides.....	2
2. Les différentes classes de lipides.....	2
3. La composition des lipides en acides gras.....	3
B. Les glucides.....	3
C. Les protéines.....	4
1. Les protéines sarcoplasmiques.....	4
2. Les protéines des myofibrilles.....	4
3. Les protéines du tissu de soutien.....	5
D. Les constituants azotés non protéiques.....	5
E. Les vitamines et minéraux	5
II. Microbiologie du poisson vivant.....	6
III. Les modifications post-mortem du poisson.....	7
A. Changements organoleptiques post-mortem.....	7
B. Les modifications de l'activité des cellules musculaires après la mort.....	8
1. Changements autolytiques du glycogène et des nucléotides... ..	10
2. La rigidité cadavérique et sa résolution.....	11
a. Apparition de la rigidité cadavérique.....	11
b. Autolyse des protéines et résolution de la rigidité cadavérique.....	12
3. Facteurs de variation de la durée des phases d'apparition/résolution de la rigidité.....	12
C. L'oxydation des lipides.....	13
1. Mécanisme des réactions.....	13
2. Composés impliqués dans les réactions d'oxydation des lipides.....	14
3. Conséquences des phénomènes d'oxydation sur la chair de poisson	15

D. Evolution de la flore bactérienne après la mort et rôle dans les phénomènes d'altération.....	16
1. L'invasion microbienne.....	16
2. Le poisson: substrat pour les bactéries	17
a. Réduction de l'O.T.M.A. en T.M.A.....	17
b. Dégradation des acides aminés	18
c. Dégradation des protéines	20
d. Dégradation des nucléotides.....	20
e. Dégradation des lipides.....	20
IV. Les méthodes d'appréciation de la qualité du poisson frais.....	20
A. Méthodes organoleptiques.....	21
1. Description des caractères d'altération.....	22
2. Barème de cotation de fraîcheur européen	23
3. Barème français de cotation chiffrée.....	26
4. Méthode Torry.....	29
5. La méthode de l'indice de qualité.....	30
B. Méthodes utilisant le dosage de composés chimiques	30
1. Dosage de l'azote basique volatil total (A.B.V.T.) ou de ces constituants.....	31
a. Techniques utilisées	32
b. Evolution de la concentration des différentes amines volatiles durant le stockage sous glace	33
c. ABVT et TMA: Critères recommandés pour les poissons et les céphalopodes.....	35
2. Dosage des amines biogènes	36
a. Amines biogènes et indices de fraîcheur	36
b. Dosage de l'histamine	37
3. Dosage des métabolites de l'ATP	38
a. Le facteur K	38
b. Mesure du facteur K.....	38
c. Utilisation du facteur K dans l'industrie	39
4. Analyse des composés volatils	40
a. Intérêts de l'analyse des composés volatils	40
b. Méthodes de mesure	42
c. Fonctionnement d'un nez électronique, exemple du Fox-2000	43

C. Méthodes microbiologiques.....	44
1. Echantillonnage.....	44
2. Essais microbiologiques	46
a. La numération totale des organismes viables ou la numération sur lames des aérobies mésophiles	46
b. E.coli.....	47
c. Coliformes fécaux	47
d. Staphylococcus aureus.....	47
e. Salmonelles.....	48
3. Critères microbiologiques.....	48
4. Dénombrement des organismes spécifiques d'altération.....	50
D. Evaluation de la fraîcheur du poisson par les techniques de mesures physiques	51
1. Méthodes mécaniques et évaluation de la texture.....	51
2. Mesure de la fraîcheur basée sur les propriétés électriques.....	52
E. Recherche de toxiques et de biotoxines marine.....	53
1. Exemple du Mercure	53
2. Biotoxines marine.....	55
V. Le poisson et les risques pour la santé publique.....	56

PARTIE EXPERIMENTALE

Objectifs	59
I. Matériels et méthodes.....	60
1. Préparation des échantillons	60
2. Méthodes d'analyses effectuées	64
A. Examen sensoriel	64
B. Analyses chimiques	65
1. Dosage de l'ABVT et de la TMA.....	65
a. Matériels	65
b. Dosage de l'ABVT par la méthode d'entraînement à la vapeur	67
c. Dosage de la TMA par la méthode d'entraînement à la vapeur	69
2. Expression des résultats	70
C. Analyse statistique.....	70

II. Résultats	72
A. Sardine conservée à température ambiante entre 16 – 19°C	72
1. Evolution des paramètres organoleptiques et chimiques (teneur en ABVT, TMA).....	72
2. Corrélation entre l’appréciation organoleptique et la teneur en ABVT, TMA.....	73
3. Evolution du rapport $P = TMA/ABVT$	74
B. Sardine conservée à température ambiante entre 32 – 35°C	76
1. Evolution des paramètres organoleptiques et chimiques (teneur en ABVT, TMA).....	76
2. Corrélation entre l’appréciation organoleptique et la teneur en ABVT, TMA.	77
3. Evolution du rapport $P = TMA/ABVT$	78
C. Sardine conservée à température de réfrigération (2°C)	80
1. Evolution des paramètres organoleptiques et chimiques (teneur en ABVT, TMA).....	80
2. Corrélation entre l’appréciation organoleptique et la teneur en ABVT, TMA.	81
3. Evolution du rapport $P = TMA/ABVT$	82
D. Sardine conservée sous glace	84
1. Evolution des paramètres organoleptiques et chimiques (teneur en ABVT, TMA).....	84
2. Corrélation entre l’appréciation organoleptique et la teneur en ABVT, TMA	85
3. Evolution du rapport $P = TMA/ABVT$	86
E. Comparaison entre les résultats de la sardine entreposée sous différents modes de conservation	88
III. Discussion	89
1. L’évolution organoleptique	89
2. Evolution de l’ABVT	91
3. Evolution de la TMA.....	92
4. Evolution du rapport $P = TMA/ABVT$	95
5. Efficacité du glaçage et de réfrigération dans la conservation de la sardine	96
6. Méthodes utilisées	97
IV. Recommandations	99
Conclusion	105
Références bibliographiques	107
Annexes	114

LISTE DES TABLEAUX

Pages

Tableau 1 : Composition chimique moyenne (%) de la partie comestible de la sardine crue et cuite	6
Tableau 2 : Causes d'altération du poisson, en fonction du type de changement observé	8
Tableau 3 : Principaux pro-oxydants présents dans le poisson.....	15
Tableau 4 : principaux anti-oxydants présents dans le poisson	15
Tableau 5 : Description des caractères d'altération chez les téléostéen	22
Tableau 6 : Barème de cotation de fraîcheur européen des poissons bleus.....	24
Tableau 7 : Eléments complémentaires à prendre en compte pour le classement.....	25
Tableau 8 : Barème de cotation chiffrée français.....	27
Tableau 9 : Correspondance entre la méthode européenne et la méthode chiffrée française.....	28
Tableau 10 : Grille d'évaluation de l'index Torry pour le poisson cuit... ..	29
Tableau 11 : Concentration moyennes en DMA, TMA, OTMA, et ABVT dans la chair de poisson juste après la capture d'après	31
Tableau 12 : Différentes techniques utilisées pour la mesure de la teneur en amines volatiles.	32
Tableau 13 : Recommandation pour l'utilisation de l'ABVT et du facteur P pour apprécier l'état d'altération du poisson (Téléostéens).....	35
Tableau 14 : Recommandation pour l'utilisation de l'ABVT pour apprécier l'état d'altération des poissons sélaciens.	35
Tableau 15: Recommandation pour l'utilisation de l'ABVT pour apprécier l'état d'altération des Céphalopodes crus.....	35
Tableau 16 : Catégories d'odeur du poisson perceptibles lors de son stockage et exemples de composés impliqués dans la formation de ces odeur.....	41
Tableau 17: Plan d'échantillonnage et limites microbiologiques recommandées pour le poisson frais et produits de la mer présentant un niveau de risque identique.....	45

Tableau 18 : Critères microbiologiques impératifs et indicatifs fixés pour le poisson tranché, panés ou non et les filets de poissons frais.	48
Tableau 19: Critères microbiologiques des poissons.....	49
Tableau 20: Liste des méthodes de référence ou de routine validées AFNOR pour l'évaluation réglementaire des critères microbiologiques dans les produits de la pêche.....	50
Tableau 21_: Exemples de concentrations maximales de contaminants chimiques dans les poissons de consommation. DDT : Dichloro-Diphényl-Trichlorethane, DDD : Dichloro-Diphényl-Dichlorethane, PCB.....	53
Tableau 22: Teneur moyenne maximale en Hg tolérable et nombre minimal d'échantillon par lot fixée par la décision de la commission n° 93/351/CEE du 19 Mai 1993.....	54
Tableau 23 : Biotoxines marines chez les poissons.....	55
Tableau 24 : Analyse des risques que comporte le poisson frais utilisé comme matière première	57
Tableau 25 : Conditions de pêche de la sardine.....	61
Tableau 26 : Répartition du nombre d'échantillons analysés par lot et par mode de conservation.....	64
Tableau 27 : Evolution des paramètres organoleptiques et la teneur en ABVT, TMA de la sardine conservée à température ambiante (16 – 19°C) Moyenne ± Ecart-type.....	72
Tableau 28 Evolution des paramètres organoleptiques et la teneur en ABVT, TMA de la sardine conservée à température ambiante (32– 35°C) Moyenne ± Ecart-type.....	76
Tableau 29 Evolution des paramètres organoleptiques et la teneur en ABVT, TMA de la sardine réfrigérée (2°C). Moyenne ± Ecart-type.....	80
Tableau 30: Evolution des paramètres organoleptiques et la teneur en ABVT, TMA de la sardine conservée sous glace (0 – 5°C). Moyenne ± Ecart-type.....	84
Tableau 31 : Récapitulatif des résultats au moment de rejet.....	88

LISTE DES FIGURES

Pages

Figure1 : Etape de l'évolution biochimique du muscle de poisson après sa mort	9
Figure 2 : Réactions d'autolyse des nucléotides aboutissant à la formation d'hypoxanthine.....	11
Figure 3 : Mécanisme d'oxydation des lipides.....	14
Figure 4 : Dégradation de l'urée sous l'action d'uréases bactérienne.....	18
Figure 5 : Indices d'altérations utilisant les concentrations en amines biogènes	36
Figure 6 : Décarboxylation de l'histidine	37
Figure 7 : Navire de pêche de type sardinier: port de pêche de Zemmouri.....	61
Figure 8 : Protocole expérimentale.....	62
Figure 9 : Appareil de Kjeldhal	66
Figure 10 : Etapes de dosage de l'ABVT par la méthode d'entraînement à la vapeur.....	68
Figure 11 : Evolution des paramètres organoleptiques et chimiques (teneur en ABVT, TMA) de la sardine conservée à T° ambiante (16 – 19°C).....	72
Figure 12 : Corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en ABVT chez la sardine conservée à T° ambiante : 16 – 19°C.....	73
Figure 13 : Corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en TMA chez la sardine conservée à T° ambiante : 16 – 19°C.....	74
Figure 14 : Evolution des paramètres organoleptiques et du rapport P=TMA/ABVT de la sardine conservée à T° ambiante (16 – 19°C).....	75
Figure 15 : Corrélation entre l'appréciation organoleptique et l'évolut du rapport P=TMA/ABVT chez la sardine conservée à T° ambiante : 16 – 19°C.....	75
Figure 16 : Evolution des paramètres organoleptiques et chimiques (teneur en ABVT, TMA) de la sardine conservée à T° ambiante (32 – 35°C)	76
Figure 17 : Corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en ABVT chez la sardine conservée à T° ambiante : 32 – 35°C.....	77
Figure 18 : Corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en TMA chez la sardine conservée à T° ambiante : 32 – 35°C.....	79

Figure 19 : Evolution des paramètres organoleptiques et du rapport $P=TMA/ABVT$ de la sardine conservée à T° ambiante (32 – 35°C).....	79
Figure 20 : Corrélation entre l’appréciation organoleptique et l’évolution du rapport $P=TMA/ABVT$ chez la sardine conservée à T° ambiante : 32 – 35°C.....	79
Figure 21 : Evolution des paramètres organoleptiques et chimiques (teneur en ABVT, TMA) de la sardine réfrigérée (2°C)	80
Figure 22 : Corrélation entre l’appréciation organoleptique et la teneur en ABVT chez la sardine conservée à T° de réfrigération (2°C).....	81
Figure 23: Corrélation entre l’appréciation organoleptique et la teneur en TMA chez la sardine conservée à T° de réfrigération (2°C).....	82
Figure 24 : Evolution des paramètres organoleptiques et du rapport $P=TMA/ABVT$ de la sardine conservée réfrigérée (2°C).....	83
Figure 25 : Corrélation entre l’appréciation organoleptique et l’évolution du rapport $P=TMA/ABVT$ chez la sardine conservée réfrigérée (2°C).....	83
Figure 26: Evolution des paramètres organoleptiques et chimiques (teneur en ABVT, TMA) de la sardine conservée sous glace (0 – 5°C°).....	84
Figure 27 : Corrélation entre l’appréciation organoleptique et la teneur en ABVT chez la sardine conservée sous glace (0 – 5°C°).....	85
Figure 28: Corrélation entre l’appréciation organoleptique et la teneur en TMA chez la sardine conservée sous glace (0 – 5°C°).....	86
Figure 29: Evolution des paramètres organoleptiques et du rapport $P=TMA/ABVT$ de la sardine conservée sous glace (0 – 5°C°).....	87
Figure 30 : Corrélation entre l’appréciation organoleptique et l’évolution du rapport $P=TMA/ABVT$ chez la sardine conservée sous glace (0 – 5°C°)	87
Figure 31 : Conditions hygiéniques défavorables de débarquement de la sardine et utilisation des caisses en bois au niveau du port de Zemmouri	99
Figure 32: Caisses en plastiques bien rangées	99
Figure 33: Camions frigorifiques bien entretenus.....	100
Figure 34 : Hygiène des mains	101

LISTE DES ABREVIATIONS

ABVT :	Azote Basique Volatil Total
ADP :	Adénosine diphosphate
AFNOR :	Association Française de Normalisation
AGPI :	Acide gras polyinsaturés
AI:	Amine Index
AMP :	Adénosine monophosphate
ANP :	Azote non protéique
ATP :	Adénosine tri-phosphate
CE :	Communauté européenne
CEE :	Communauté Economique Européenne
DDD :	Dichloro-Diphényl-Dichlorethane
DDT :	Dichloro-Diphényl-Trichlorethane
DMA:	Diméthylamine
FAO:	Food and Agriculture Organization of the United Nations
HACCP:	Hazard Analysis Critical Control Point
HPLC:	High Pressure Liquid Chromatography
Hx:	Hypoxanthine
ICMSF:	International Commission on Microbial Specifications for Foods
IMP:	Inosine monophosphate
INO:	Inosine
ITSV:	Informations Techniques des Services Vétérinaires Français
LCI:	Laboratoire Central de l'Intendance
MPRH:	Ministère de la Pêche et des Ressources Halieutiques
NH₃ :	Ammoniac
OTMA:	Oxyde de triméthylamine
QIM:	Quality Index Method
TMA:	Triméthylamine
UFC :	Unités Formant Colonies

Introduction :

La qualité du poisson frais est indissociable de la notion de fraîcheur. En effet, pour répondre aux exigences des consommateurs, le produit doit posséder des caractéristiques proches de celle du poisson juste après sa capture. Les phénomènes d'altération sont inéluctables et apparaissent dans un laps de temps beaucoup plus court que pour les autres denrées d'origine animale. Les techniques d'évaluation mise au point par les professionnels de la filière ont permis de définir des critères sensoriels, biochimiques, physiques et microbiologiques, témoins de cette perte de fraîcheur. Toutes ces méthodes permettent de mieux définir la notion d'altération et donc de mieux contrôler. Ces critères permettent également de fixer les prix lors des échanges commerciaux.

A l'heure actuelle, l'analyse sensorielle est le moyen le plus utilisé par le secteur des produits de la mer et les services d'inspection pour évaluer la fraîcheur et la qualité des poissons et des produits de la pêche.

Les méthodes chimiques représentent un outil fiable utilisé dans le contrôle de la qualité des produits de la mer.

Les dosages chimiques de composés témoins ou responsables des phénomènes d'altération (notamment, l'ABVT et la TMA) permettent, d'évaluer le degré de fraîcheur ou d'altération du poisson frais.

Le dosage de l'ABVT garde toujours l'avantage de pouvoir être simple, et rapide, ce qui lui a valu l'intérêt qu'il suscite depuis longtemps.

Il est à noter que les critères chimiques ne constituent qu'un élément d'appréciation et que d'autres éléments gardent toute leur importance, notamment les tests organoleptiques.

La sardine fraîche est très périssable. Son altération est plus rapide que celles des autres poissons. Elle est continue depuis la pêche jusqu'à la consommation.

Le présent travail a pour objectif de contribuer à l'étude de la conservabilité de la sardine fraîche « *Sardina pilchardus* » par l'évaluation des paramètres sensoriels et chimiques (teneur en ABVT, TMA) et d'étudier les corrélations qui existent entre l'évolution de la qualité organoleptique et la teneur en ABVT, TMA.

Le présent travail commence par une synthèse bibliographique des travaux antérieurs, suivi d'une présentation de la méthodologie utilisée. Dans une troisième partie, les résultats sont exposés, enfin la dernière partie est consacrée à une discussion, recommandations et une conclusion générale.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Composition du poisson au moment de la capture

A. Les lipides

1) Teneur en lipides

Les poissons répartissent leurs réserves lipidiques de façon variable selon les espèces. En effet les lipides s'accumulent soit dans le foie soit dans les muscles. Lorsque le foie se surcharge en graisse, les muscles ne contiennent qu'une faible teneur en lipides. Ces poissons sont appelés « poissons maigres » (cabillaud, morue). Pour les « poissons gras » (sardine, saumon, thon) les lipides s'accumulent dans les muscles, la teneur en lipides des muscles est alors supérieure à 8 % (Tableau 1). Une classe intermédiaire est parfois citée dans la littérature, celle des « poissons semi- gras » (sole, plie, turbot) dont la teneur en lipides est comprise entre 3 et 8%. (sainclivier, 1983)

La teneur en lipides varie selon la localisation des muscles dans le poisson. On distingue les muscles blancs et les muscles rouges, ces derniers possèdent un taux de lipides bien supérieur ainsi qu'une teneur en myoglobine plus élevée et un taux d'humidité moindre. Les muscles rouges interviennent lors du déplacement pendant les migrations saisonnières.

La teneur en lipides varie également en fonction du cycle sexuel, cette variation a des conséquences sur les muscles des poissons gras uniquement. En période de repos sexuel le taux de lipides est le plus élevé. Il diminue de façon plus ou moins importante selon les espèces au moment de la migration et de la ponte.

Le sexe de l'animal, son régime alimentaire, la localisation géographique sont également des facteurs de variations du taux musculaire de lipide (Andrie, 2002).

2) Les différentes classes de lipides

Les lipides des poissons peuvent être classés en deux catégories : d'un côté les phospholipides et le cholestérol qui ont un rôle essentiel dans la structure et le fonctionnement de la cellule, et de l'autre les lipides neutres qui fournissent des acides gras nécessaires au métabolisme énergétique. Ces derniers sont regroupés en globules dans les cellules musculaires et le tissu de soutien qui les entoure. Les lipides neutres sont des triglycérides, qui sont des lipides de réserves donneurs d'acides gras. Même si la fraction totale d'acides gras dépend de la quantité totale de graisse de poisson, sa valeur varie fortement selon l'espèce, l'âge, le sexe, le stade physiologique du poisson. Au contraire les taux de phospholipides et de cholestérol sont relativement constants dans les différentes espèces. (Ackman 1988).

3) La composition des lipides en acides gras

Le poisson est riche en acides gras poly insaturés(A.G.P.I), également appelés acides gras essentiels car ils ne sont pas synthétisés par l'organisme mais sont indispensables à la synthèse de certains constituants nécessaires au fonctionnement de l'organisme comme les prostaglandines, les leucotriènes et les thromboxanes.

Ces A.C.P.I peuvent être classés en deux familles distinctes :

- Famille $\omega 6$, acides gras dérivés de l'acide linoléique et dont le principal représentant est l'acide arachidonique.
- Famille $\omega 3$, acides gras dérivés de l'acide alpha linoléique et dont les principaux représentants sont l'acide éicosapentoénoïque (EPA) et l'acide docosahéxaénoïque (DHA).

On reconnaît aujourd'hui des vertus sur le plan médical aux A.G.P.I et notamment aux acides gras de la famille $\omega 3$. Les A.G.P.I. en général sont intéressants car ils interviennent sur le métabolisme du cholestérol. En effet, si on ingère simultanément du cholestérol et des A.G.P.I., on retrouve dans les selles une grande partie du cholestérol sous forme de cholestérol estérifié, la résorption intestinale du cholestérol est donc diminuée. De plus le cholestérol estérifié à des A.G.P.I. se lie moins facilement à la paroi des vaisseaux sanguins ce qui limite le risque d'athérosclérose.

Les A.G.P.I. de la famille $\omega 3$ sont également intéressants pour leurs effet régulateur dans le métabolisme de l'acide arachidonique. En effet, cet acide gras est un précurseur de la synthèse de nombreuses molécules comme des médiateurs de l'immunité, des vasoconstricteurs, des substances thrombosantes, etc. Mais si elles sont synthétisées en trop grande quantité, elles peuvent avoir un effet néfaste et provoquer des maladies auto-immunes, de l'asthme, de l'hypertension artérielle (Kinsella, 1988). Les A.G.P.I. de la famille $\omega 3$ favorisent la synthèse de médiateurs ayant une activité pro-inflammatoire moins marquée, voire une activité anti-inflammatoire.

La sardine (*Sardina pilchardus*) a une teneur élevée en A.G.P.I. (41,52%) (Zarrouk et Maurin, 1986).

B. Les glucides

Les glucides ne sont présents qu'en très faible quantité dans le muscle, sous forme de glycogène. Le foie du poisson sortant de l'eau peut contenir de 0,5 à 2% de glycogène. Le taux de glycogène est étroitement lié au mode de capture du poisson. Plus la dépense énergétique est importante au moment de la capture plus ce taux sera faible.

C. Les protéines

Les protéines sont responsables d'un grand nombre de fonctions physiologiques telles que le maintien de la structure, le métabolisme et les mécanismes de la contraction/ relaxation qui permettent la mobilité de l'animal.

Après l'eau qui représente 80% du poids de la chair de poisson, les constituants majeurs sont les protéines. La qualité alimentaire de la chair de poisson est en grande partie due à la nature spécifique des constituants protéiques et à leur configuration structurale complexe. Même si le mécanisme de contraction et relaxation des tissus musculaires est commun à tous les animaux, l'architecture des tissus musculaires des poissons est très différente des autres animaux, de part le milieu dans lequel ils évoluent (Love R.M., 1970). Le support apporté par l'eau qui environne les poissons, diminue les besoins en muscles supportant le squelette.

Les cellules musculaires des poissons sont généralement plus courtes que celles des mammifères et des oiseaux. Au lieu d'être connectés à des tendons, les muscles se rejoignent en leur extrémité dans un tissu de soutien appelé myocommata qui sépare un bloc musculaire d'un autre (Love R.M., 1970). Ces blocs de cellules ou myotomes ont une forme comparable à la lettre « W ». Par chauffage le myocommata qui est composé en majorité de collagène se sépare, donnant son aspect caractéristique à la chair de poisson cuite.

Les protéines présentes dans le muscle de poisson peuvent être classées d'une façon générale en trois principaux groupes : les protéines sarcoplasmiques, les protéines myofibrillaires et celles du tissu conjonctif.

1) Les protéines sarcoplasmiques

Les protéines sarcoplasmiques représentent 20 – 35 % des protéines totales. Elles sont solubles dans l'eau et sont principalement des enzymes du métabolisme énergétique, comme les enzymes de la glycolyse. La myoglobine, protéine de stockage de l'oxygène, fait partie de cette fraction.

2) Les protéines des myofibrilles.

Elles représentent 65 à 75 % des protéines du muscle. Leur extraction est possible dans des solutions salines concentrées.

Les myofibrilles occupent l'essentiel du volume cellulaire d'une cellule musculaire. Par observation au microscope à lumière polarisée on constate que les myofibrilles sont constituées d'une alternance de bandes claires dites bandes **I** et de bandes foncées dites bandes **A**. Les bandes claires sont traversées en leur milieu par les stries **Z** et les bandes sombres par

une zone plus claire appelé zone H, coupée en son milieu par une bande sombre appelée ligne M. l'élément de base de myofibrille s'étend entre deux stries Z, on l'appelle sarcomère

3) Les protéines du tissu de soutien

Ces protéines sont insolubles dans des solutions salines concentrées et dans l'eau. Elles représentent 3 à 10% des protéines musculaires contre 10 à 15% chez les mammifères. Leur extraction est possible dans des solutions acides, le collagène étant la molécule la plus abondante. Le muscle du poisson est caractérisé par une faible teneur en collagène, l'importance d'une structure conjonctive de soutien étant moindre dans l'eau. Cette caractéristique explique la tendreté de la chair de poisson et permet même une consommation à l'état cru.

D. Les constituants azotés non protéiques

En plus des protéines qui constituent 70 à 91% de l'azote total, on trouve des composés divers formant « l'azote non protéique » (A.N.P) composé d'acides aminés libres, de dipeptides, d'oxydes d'amines ou de dérivés d'acides aminés.

Chez les Gadidés, l'A.N.P est constitué en majorité par de la taurine, de la créatine, de l'oxyde de triméthylamine (O.T.M.A), puis en moindre proportion de l'ansérine, de la créatinine, de l'urée. Certains de ces constituants sont caractéristiques d'une espèce ou d'une famille de poissons. Chez les sélaciens la teneur élevée en urée est commune à tous les représentants. Ces composés sont volatils et donneraient pour certains auteurs son goût caractéristique à l'espèce ou la famille de poisson.

E. Les vitamines et minéraux :

Les matières minérales se caractérisent par l'abondance du phosphore, du soufre et du potassium. En revanche les taux de sodium, calcium et magnésium sont faibles. On trouve également des oligo-éléments comme le fer (trois fois moins que dans la viande), l'iode, le cuivre, le zinc.

Le poisson est réputé comme une bonne source de vitamines A et D. En fait celles-ci sont présentes surtout dans le foie, en faibles quantités dans la chair des poissons maigres, mais très présentes dans celle des poissons semi-gras et gras. Les vitamines E et K sont retrouvées principalement dans les huiles de chair ou de foie.

Les teneurs en vitamines hydrosolubles sont intéressantes, le muscle de poisson contient, en effet, de la biotine, de l'acide folique, de la niacine. La thiamine est uniquement présente dans

les poissons très frais. La riboflavine, la pyridoxine et la vitamine B₁₂, sont surtout présentes dans le poisson à chair rouge comme le thon, le hareng, le maquereau (Andrie, 2002).

Tableau 1 : Composition chimique moyenne (%) de la partie comestible de la sardine crue et cuite (Irineu et al., 2009)

	Sardine crue	Sardine cuite
Eau (%)	67,3 ± 0,7	63,6 ± 0,7
Lipides (%)	14,5 ± 2,1	14,6 ± 0,7
Protéines (%)	12,7 ± 0,8	14,3 ± 0,6
Cendres (minéraux) (%)	4,9 ± 0,9	6,4 ± 0,7

II. Microbiologie du poisson vivant

Les micro-organismes sont présents sur les surfaces externes (peau et branchies) et les intestins. Le muscle du poisson vivant ou fraîchement capturé est pratiquement stérile. La charge microbienne est très variable, elle dépend de la température de l'eau, de sa salinité, du niveau de pollution, mais aussi de l'espèce.

Elle est de l'ordre de 10² à 10⁷ germes/cm² de peau et de 10³ à 10⁹ germes par gramme de branchies ou d'intestins (Shewan, 1962). Les mêmes types de bactéries hétérotrophes sont isolées de poissons pêchés dans différentes régions du monde, avec cependant des différences très marquées dans les niveaux de contamination, la composition générique et les caractères physiologiques des espèces isolées.

La flore de surface du poisson fraîchement capturé dans les eaux tempérées est dominée par des bactéries psychotrophes en bâtonnet, Gram négatifs, aérobies ou anaérobies facultatives appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Sarcina*, *Proteus*, *Bacillus*, *Moraxella*, *Lactobacillus*, *Alcaligenes* (Shewan, 1977).

L'existence à la surface des poissons de germes potentiellement pathogènes tels que *Vibrio parahaemolyticus*, *Clostridium botulinum*, est directement liée à leur présence dans les eaux ou les sédiments (bactéries indigènes). *Salmonella spp.*, *E coli*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* peuvent contaminer le poisson lors des manipulations de la capture à la consommation (bactéries non- indigènes). La flore intestinale normale est composée de : *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Moraxella/Acinetobacter*,

Pseudomonas, *Aeromonas*, et en faible nombre des bactéries à coloration de Gram positive dont *Clostridium sp.*

Les bactéries à coloration de gram positive sont plus fréquemment isolées, dans les régions tropicales : il s'agit de *Micrococcus*, *Bacillus* et des *Corynéformes*. (Shewan, 1977).

La flore microbienne du poisson va considérablement évoluer après la capture de l'animal et ce de façon variable selon l'espèce de poisson, son mode de capture, de traitement et de conservation.

III. Les modifications post-mortem du poisson

A. Changements organoleptiques post-mortem.

Les changements organoleptiques sont perçus par les sens, il s'agit de modifications de l'odeur, de l'apparence, de la texture et du goût.

Immédiatement après la mort, les muscles sont totalement relaxés, le poisson est mou et souple, et la texture est élastique au toucher. Ensuite, le tissu musculaire se contracte, se durcit. Quand le corps entier se raidit le poisson a atteint le stade de rigidité cadavérique. Cet état dépassé, le muscle se détend de nouveau, retrouve une souplesse et une texture proche de celle qui suit la mort. Avec de l'expérience il est possible de savoir si le muscle est en prés ou en post rigidité cadavérique. Dans le premier cas le poisson est souple, soumise à une légère pression, sa chair n'en conserve aucune trace. Les mécanismes ainsi que les différentes étapes de la rigidité cadavérique seront développées plus loin. En général les mauvaises odeurs se manifestent d'abord au niveau de la cavité abdominale. (Huss H., 1988).

La notion d'altération ne répond pas à une description objective. Ce pendant il existe des signes manifestes d'altération :

- Détection d'odeurs et de saveurs désagréables
- Formation d'une couche poisseuse
- Production de gaz
- Coloration anormale
- Changement de texture

L'apparition de ces signes d'altération est due à la combinaison de phénomènes microbiologiques, chimiques, physiques et autolytiques comme le montre le tableau 2

Tableau 2 : Causes d'altération du poisson, en fonction du type de changement observé
(Huss H., 1994)

Signes d'altération	Microbiologiques	Chimiques (oxydation)	Autolytiques	Physiques
Odeurs/saveurs anormales	+	+	+	–
Formation d'une couche poisseuse	+	–	–	–
Formation de gaz	+	–	–	–
Changements de couleurs	+	+	+	+
Changements de texture	+	–	+	+

B. Les modifications de l'activité des cellules musculaires après la mort

La mort de l'animal entraîne un arrêt de l'homéostasie, de l'apport d'oxygène ainsi que de la production d'énergie. Les cellules utilisent dans ces conditions du glycogène et les produits riches en énergie comme les nucléotides. Ce processus qualifié d'autolytique se manifeste précocement, il est à l'origine des premières modifications organoleptiques du poisson (figure 1). La rigidité cadavérique survient quand l'adénosine triphosphate (ATP) disponible pour les cellules musculaires est épuisée. En effet, en absence d'ATP, l'actine et la myosine se lient de façon irréversible.

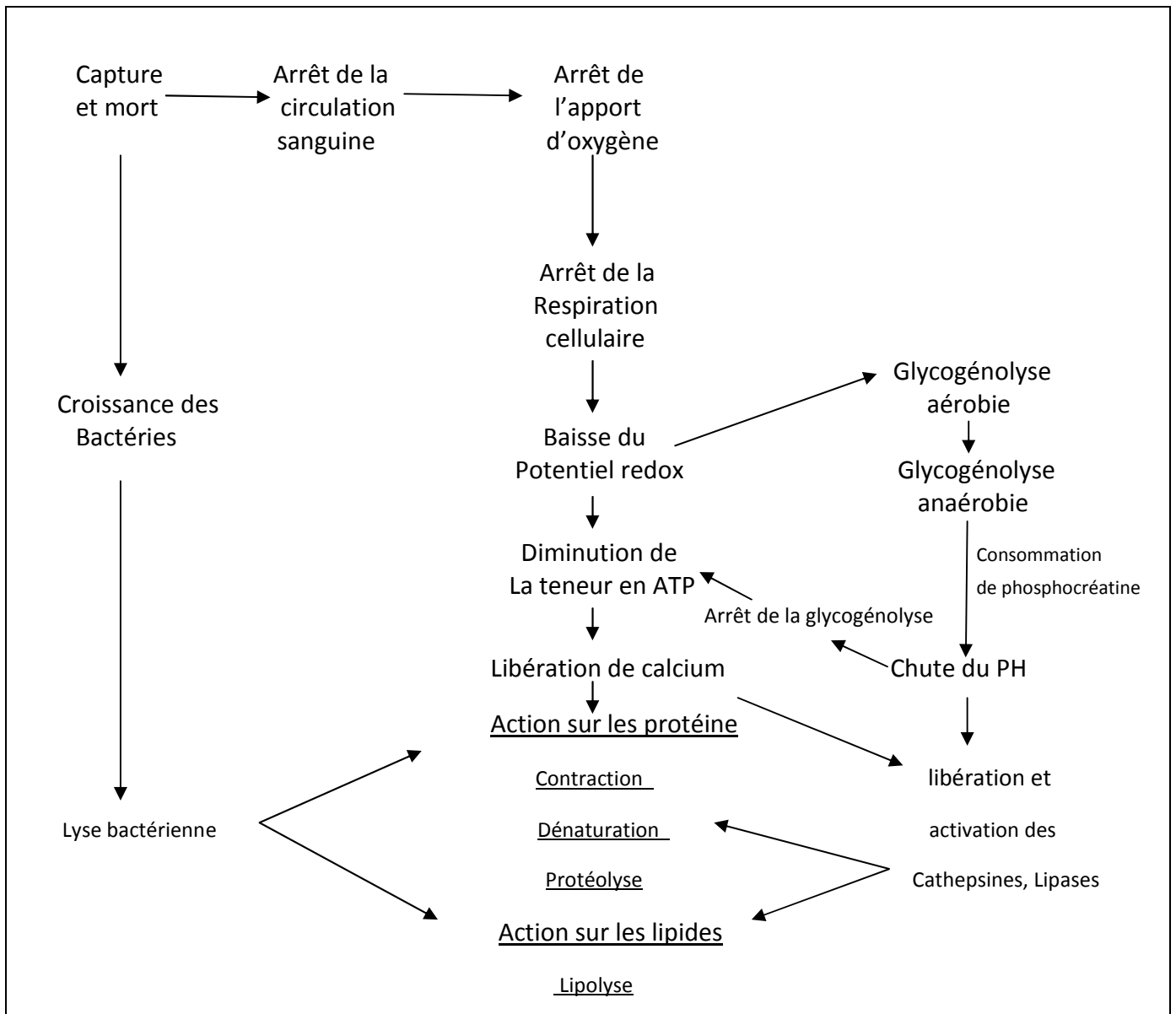
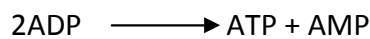


Figure1 : Etape de l'évolution biochimique du muscle de poisson après sa mort. (Hultin, 1992)

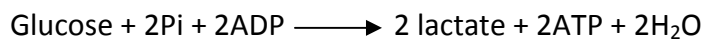
1. Changements autolytiques du glycogène et des nucléotides

L'arrêt de la circulation sanguine prive les tissus de l'apport d'oxygène. La respiration cellulaire s'arrête, le potentiel d'oxydoréduction passe d'environ +250 à -50 millivolts (Hultin, 1992).

L'ATP est utilisée et les concentrations en ADP et Pi augmentent. La phosphocréatine disponible fournit bien de l'ATP, mais elle est vite épuisée. L'ATP est alors produite à partir de deux molécules d'ADP selon la réaction suivante :



Cette réaction est catalysée par l'adenyl kinase. On constate alors une augmentation de la concentration en AMP. Des concentrations élevées en AMP activent la phosphorylase b qui catalyse la dégradation des réserves de glycogène du muscle. Lorsque le taux d'oxygène est insuffisant pour assurer le métabolisme aérobie, l'ATP est alors produite par glycolyse anaérobie à partir du glycogène, aboutissant à la formation d'acide lactique.



Rapidement les quantités d'ATP produites par cette voie ne suffisent plus à compenser les pertes résultant de son hydrolyse par l'ATPase sarcoplasmique. D'autre part, la formation d'acide lactique provoque un abaissement du pH, ce qui a pour effet d'inhiber progressivement diverses enzymes, notamment la phosphorylase. En définitive la glycolyse s'arrête. Même si la réserve de glycogène n'est pas complètement épuisée, la teneur en ATP se rapproche de zéro.

En général, les muscles de poisson comparés à ceux des mammifères, renferment des quantités de glycogène relativement faibles. En conséquence, le pH final est plus élevé après la mort, ce qui rend la chair de poisson plus vulnérable à l'attaque microbienne.

D'importantes variations de la teneur en glycogène existent d'une espèce à l'autre et même entre individus d'une même espèce. Ainsi les différences entre poissons bien nourris, plus ou moins épuisés, se manifesteront par un taux de glycogène différent et donc un pH post-mortem plus ou moins élevé.

Après une série de réactions de déphosphorylation et désamination, l'ATP se dégrade en inosine monophosphate (IMP), transformé à son tour en hypoxanthine (Hx) et ribose (figure 2).

Ces processus autolytiques se déroulent de la même manière chez tous les poissons, mais avec une vitesse qui varie énormément d'une espèce à l'autre. L'effet des produits de dégradation autolytique sur la qualité organoleptique n'est que partiellement compris. Il est connu depuis longtemps au Japon que l'IMP ainsi que d'autres nucléotides relèvent fortement le goût même à des concentrations faibles et qu'en association avec l'acide glutamique ils déterminent un « goût de viande » (Huss, 1988). L'inosine serait pratiquement dépourvue de saveur, alors que l'hypoxanthine aurait la propriété de donner un goût amer au poisson en cours d'altération.

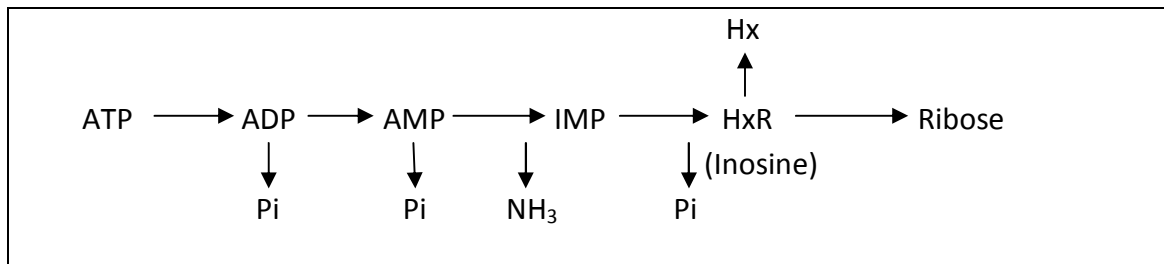


Figure 2: Réactions d'autolyse des nucléotides aboutissant à la formation d'hypoxanthine (Huss, 1988)

2. La rigidité cadavérique et sa résolution

a) Apparition de la rigidité cadavérique

Suite à une contraction, la repolarisation des cellules musculaires et des cellules nerveuses les innervant, nécessite de l'ATP. Dans ces cellules la concentration en K⁺ est 30 fois plus importante à l'intérieur de la cellule que dans le milieu extracellulaire, et inversement la concentration en Na⁺ est 10 fois plus faible dans le milieu intracellulaire. Ces différences de concentration sont à l'origine du potentiel de membrane, qui est maintenu par une pompe Na⁺ - K⁺ - ATP dépendante localisée dans la membrane cellulaire, la sortie de trois ions sodium étant couplée à l'entrée de deux ions potassium par molécule d'ATP hydrolysée. L'arrêt de la production d'ATP suite à la mort du poisson, entraîne une perte de contrôle progressive de la pompe Na⁺ - K⁺ - ATP dépendante, provoquant des dépolarisations de plus en plus fréquentes des cellules nerveuses qui entraîne une alternance de contraction et relaxation du muscle.

Quand la concentration devient insuffisante pour maintenir le potentiel membranaire et la séquestration des ions calcium dans le réticulum sarcoplasmique, l'actine et la myosine se lient de façon irréversible aboutissant au phénomène nommé rigidité cadavérique.

b) Autolyse des protéines et résolution de la rigidité cadavérique

Les conséquences d'une concentration intracellulaire élevée en calcium sont multiples. Les ions Ca^{2+} activent des lipases, des phospholipases et des protéases. Le pH du cytosol favorise l'activité de ces enzymes. D'autres hydrolases sont libérées suite à la perte d'intégrité de la membrane des lysosomes. De plus les bactéries en multiplication libèrent également des protéases.

L'action de ces enzymes aboutit au phénomène d'attendrissement de la chair du poisson. On parle alors de résolution de la rigidité cadavérique, mais ce phénomène se poursuit et conduit à terme à une perte de fraîcheur et de qualité. Après la mort, les modifications structurales des protéines musculaires sont variables selon les espèces de poisson. Toutefois, il y a des changements clés communs, mais chaque espèce subit ces modifications à une vitesse et une intensité variable. Ces changements sont l'affaiblissement de la strie Z, la disparition de la ligne dense M, la fragmentation des myofibrilles, la perte de l'alignement transversal des éléments contractiles, la perte du caractère compact des fibres, l'augmentation des espaces intercellulaires entre les fibres, la déconnexion des fibres musculaires du myocommata et désintégration du réseau péri cellulaire (Ingólfssdóttir, 1997)

Les modifications liées aux phénomènes autolytiques et celles provoquées par les protéases d'origine bactérienne sont difficiles à différencier. Les réactions d'autolyse amorcent le processus, mais les effets des bactéries deviennent prépondérants.

Les protéases isolées dans le muscle du poisson, principalement des cathepsines, ont des niveaux d'activité relativement faible. Par contre les protéases digestives, ont un rôle important dans les phénomènes d'autolyse. Les plus importantes sont les endopeptidases du type trypsine, localisées dans le cæcum, la cathepsine D et des enzymes de type pepsine situées dans la paroi de l'estomac. Ces enzymes sont responsables de la dégradation des protéines en polypeptides larges qui seront à leur tour dégradées en peptides par des exopeptidases. (Granroth, 1978)

3. Facteurs de variation de la durée des phases d'apparition/résolution de la rigidité cadavérique

La longueur des étapes de la rigidité cadavérique (apparition, résolution) dépend de plusieurs facteurs : espèce, taille, méthode de pêche et de manutention, température et état physique du poisson. (Stroud, 1969)

Si le poisson est épuisé lors de sa capture, par exemple lors du chalutage, l'apparition de la rigidité cadavérique est plus précoce. Plus la température de stockage est élevée plus des

phases se succèdent rapidement. Le processus est plus rapide pour les poissons de petite taille que pour les plus grands et les poissons plats. Si la rigidité survient à température élevée (au dessus de 17°C pour le cabillaud) la tension qui en résulte peut être très forte et conduire à un affaiblissement du tissu conjonctif et à la rupture du filet. Le même phénomène peut avoir lieu si la manutention d'un poisson en état de rigidité s'effectue de façon trop brutale (Nazir et Magar, 1963) ;(Partmann, 1965)

C. L'oxydation des lipides

Les lipides contenus dans le poisson sont fortement insaturés, ce qui peut être vu comme un avantage (intérêt des acides gras essentiels), mais aussi comme un désavantage.

En effet, la sensibilité des acides gras vis-à-vis de l'oxydation dépend du degré d'insaturation de ces derniers. Ainsi, les acides gras du poisson sont facilement oxydés durant leur stockage post-mortem. La présence d'une gamme de pro-oxydant au sein de la chair du poisson augmente encore le risque d'oxydation. In vivo les effets de ces pro-oxydant sont contrebalancés par une variété naturelle d'anti-oxydant. Immédiatement après la mort, cette balance est perturbée et de nombreux changements, qui stimulent l'initiation de la lipo-oxydation.(Khayat et Schwall, 1983)

1. Mécanisme des réactions

L'oxydation, réaction entre un acide gras insaturé et une molécule d'oxygène, se déroule en trois phases (figure 3) :

- L'initiation : cette phase est nécessaire car l'oxygène ne peut réagir directement avec les lipides. Il y a formation de radicaux libres.
- La propagation : elle correspond à l'étape d'oxydation par l'oxygène gazeux des lipides insaturés. Elle crée autant de radicaux libres qu'elle en consomme.
- Terminaison : ce sont les réactions d'arrêt, par lesquelles les radicaux libres s'associent pour donner des composés non radicalaires.

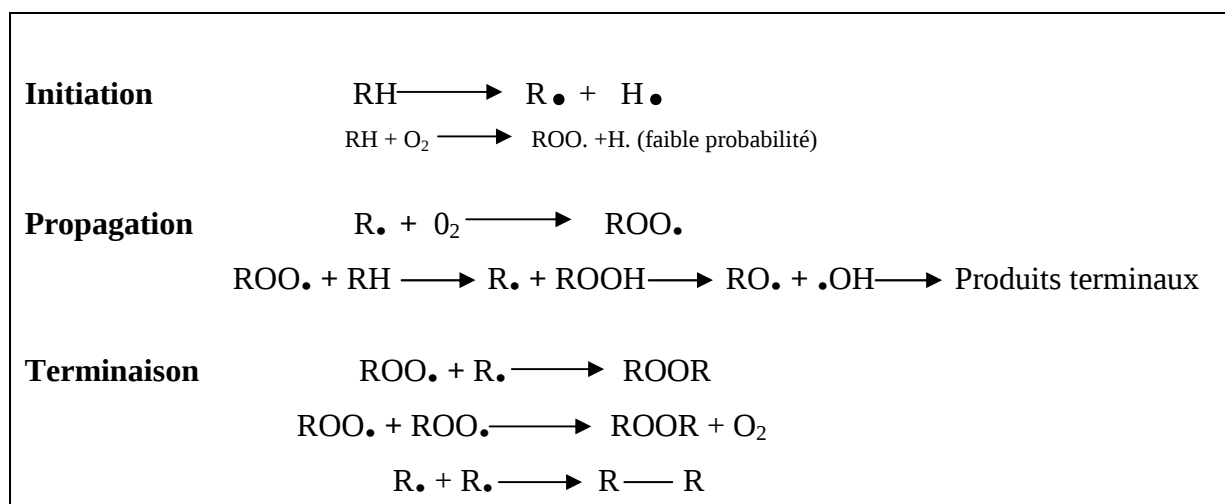


Figure 3: Mécanisme d'oxydation des lipides d'après Khayat et Schwall, 1983.

Produits terminaux : alcool, éthers, aldéhydes, cétones, hydrocarbures.

R•: radical alcoyle RO•: radical alcoxy ROO•: radical peroxy

2. Composés impliqués dans les réactions d'oxydation des lipides

Les réactions d'oxydation intéressent les acides gras libérés après hydrolyse des triglycérides et des phospholipides par des lipases ou des phospholipases. Ces enzymes ont soit une origine endogène (enzymes lysosomiales), soit exogène (enzymes d'origine bactérienne).

Les principales sources d'oxygène nécessaires pour la progression de l'oxydation des lipides sont :

- L'oxygène présent in situ, sur les sites de réaction.
- L'oxygène transporté dans le muscle.
- L'oxygène incorporé lors des étapes de transformation, comme le filetage.

L'oxygène diffuse sur 1 à 4 mm à travers la surface du tissu musculaire (Lawrie R.A. , 1974)

De nombreux composés naturellement présents dans la chair de poisson peuvent jouer le rôle de pro-oxydants (Tableau 3), en interférant avec des réactions à des niveaux variables de la chaîne d'oxydation. A l'inverse le tableau 4 regroupe des composés présents dans le poisson qui interfèrent directement ou indirectement dans les étapes d'initiation (inhibiteurs préventifs) ou de propagation (anti-oxydants vrais). Ces différents composés ont un effet concentration-dépendant sur les réactions d'oxydation, certains composés sont donc soit inhibiteur, soit initiateur.

La lumière (rayons ultra-violets), la température, l'oxygène atmosphérique, le niveau d'hydratation du produit influencent également les réactions d'oxydation.

Tableau 3 : Principaux pro-oxydants présents dans le poisson (Undeland, 1997)

Molécules métalliques De faible poids moléculaire	Système oxydants	Hemo-proteines	Enzymes
Fer Cuivre	Superoxyde Ascorbate Système mitochondrial Système microsomal	Myoglobine Hémoglobine Cytochromes	Lipo-oxygénases Cyclo-oxygénases Peroxydases

Tableau 4 : principaux anti-oxydants présents dans le poisson (Undeland, 1997)

Inhibiteurs préventifs		Oxydant vrais
Superoxide dismutase Catalase Peroxydases Feroxydases Nucléotides	Amino-acides Peptides Acides organiques Ascorbate Phospholipides	Tocopherols Ubiquinol Caroténoides Ascorbate Glutathion peroxydase

3. Conséquences des phénomènes d'oxydation sur la chair de poisson

La principale conséquence de l'hydrolyse puis de l'oxydation des lipides est la production de substances odorantes qui dans un premier temps confèrent au poisson son odeur spécifique, mais qui peuvent aboutir à l'altération de sa qualité.

L'activité des lipo-oxygénases à la surface de la peau et des branchies initie la formation de composés volatils contribuant à l'arôme plaisant du poisson frais. Ces composés responsables des odeurs caractéristiques de plantes, de melon, de concombre, de champignon, sont des carbonyles insaturés et des alcools avec 6, 8 ou 9 carbones. Les substances impliquées dans les odeurs désagréables participant à l'altération du poisson sont des aldéhydes insaturés.

Cette lipo-oxydation provoque également une baisse de la qualité nutritionnelle, des changements de texture et le développement de couleurs anormales. La durée nécessaire à ces changements de qualité dépend du type de capture et du procédé de fabrication du produit final. Ces facteurs décident donc si l'oxydation des lipides va limiter ou non la durée de vie du produit. Pendant le stockage à température ambiante ou réfrigérée, la croissance bactérienne rend le poisson impropre à la consommation avant que la rancidité soit développée de façon importante. Cependant, quand la croissance bactérienne est inhibée comme dans le poisson congelé ou séché, la rancidité est le processus qui limite la durée de vie. Les réactions d'oxydation sont encore possibles aux températures de congélation (Andries, 2002).

D. Evolution de la flore bactérienne après la mort et rôle dans les phénomènes d'altération.

Même si les réactions d'autolyse initient l'altération du poisson, les micro-organismes sont responsables des principales modifications organoleptiques conduisant à rendre le poisson impropre à la consommation.

1. L'invasion microbienne

Après une phase de latence dont la durée dépend de la température, les bactéries se multiplient rapidement pour atteindre en condition aérobie des taux de l'ordre de $10^8 - 10^9$ germes par gramme de chair ou cm^2 de peau lorsque l'altération devient détectable.

A basse température (température de réfrigération), cette croissance microbienne s'accompagne d'une modification qualitative qui se manifeste par une prédominance de germes : *Pseudomonas* et *Alteromonas* et ce quelle que soit la nature des espèces initialement présentes. Les germes appartenant aux genres *Moraxella*/*Acinetobacter* et *Flvobacterium* persistent mais en proportion décroissante au cours du stockage. La prédominance des *Pseudomonas* s'explique par leur aptitude à croître rapidement aux températures de réfrigération (temps de génération de l'ordre de 10 à 20 heures à 0°C) (Shewanet Murray 1979).

Les microorganismes se rencontrent sur la peau, les intestins et les branchies. On estimait auparavant, que les bactéries envahissaient le muscle à travers le système vasculaire ou la peau. Cependant, l'examen de coupes histologiques a montré que pour le poisson réfrigéré, seule une faible quantité de bactéries envahit le muscle et ce pendant les dernières étapes de l'altération (Shewan et Murray 1979), la principale activité microbienne a lieu à la surface où les composés de faible poids moléculaire sont dégradés. Les enzymes microbiennes passent de la surface au muscle, alors que les substrats tissulaires migrent vers l'extérieur.

Des différences au niveau du tégument et du mucus de diverses espèces de poisson constituent un facteur de variation de la vitesse d'altération. Le merlan (*Merlangius merlangius*) qui possède un tégument fragile et facilement détérioré pendant la manutention, s'altère rapidement, alors que la plie (*Pleuronectes platessa*), dotée d'un épiderme robuste recouvert d'un mucus riche en lysozyme, s'altère lentement (Murray et Fletcher, 1976)

La température de stockage, la quantité d'oxygène disponible sont les principaux facteurs influençant la vitesse d'altération. Selon les conditions de conservation une ou plusieurs espèces de bactéries sont principalement responsables des phénomènes d'altération, on parle d'organisme spécifique d'altération (SSO pour specific spoilage organism). Pour le poisson conservé sous glace l'organisme majoritairement responsable des phénomènes d'altération est *Shewanella putrefasciens* et pour le poisson frais conservé sous vide on incrimine *Photobactérium phosphoreum*. Par contre à température ambiante élevée, le poisson s'altère plus rapidement, les *Vibrionaceae* et *enterobacteriaceae* produisent des métabolites responsables des odeurs et des saveurs désagréables.

2. Le poisson: substrat pour les bactéries :

Le poisson est un très bon substrat pour la croissance bactérienne. Le poisson frais contient une proportion importante en eau. Il est riche en azote non protéique comme l'O.T.M.A. les glucides étant présents en faible proportion, une faible quantité d'acide lactique s'accumule après la mort. Cette acidification peu marquée (pH ultime de 6,5-6,8) permet une multiplication microbienne précoce. Le substrat le plus important pour l'activité métabolique des bactéries est la fraction hydrosoluble incluant l'O.T.M.A., les acides aminés libres et les nucléotides (I.M.P. et inosine). A partir de ces substrats, les bactéries produisent une série de composés volatils participant à l'altération comme le T.M.A, des composés sulfurés, de l'ammoniac, des aldéhydes et des cétones.

a) Réduction de l'O.T.M.A. en T.M.A :

L'oxydation par les microorganismes aérobies génère beaucoup plus d'énergie que la fermentation aérobie. Ce sont les bactéries aérobies qui se multiplient initialement, en utilisant les hydrates de carbone et le lactate comme source d'énergie et l'oxygène comme accepteur final d'hydrogène, les produits terminaux étant CO₂ et H₂O. La croissance de ces organismes aérobies crée des micro-régions anaérobies à la surface du poisson, favorisant la croissance de des bactéries aérobie-anaérobie facultatives.

La présence de l'O.T.M.A. permet aux bactéries capables de réduire ce composé, de se développer, y compris en anaérobiose. L'oxyde de triméthylamine n'est pas utilisé comme substrat pour les bactéries, mais comme accepteur final d'électrons. Il est indispensable pour la croissance rapide des bactéries quand l'oxygène se raréfie, la réduction de ce composé libère du T.M.A. jouant un rôle dans l'odeur du poisson en lui conférant une saveur

spécifique. Cette réaction nécessite également l'utilisation d'acides aminés libres ou de lactate (Kjosbakken et Larsen, 1974).

Plusieurs bactéries à Gram négatif se développant dans le poisson, comme *Shewanella putrefaciens*, *Photobacterium phosphoreum*, *Aeromonas spp.* Et des Entérobactéries, sont capables d'utiliser l'O.T.M.A. comme accepteur final d'électrons. (Jensen, 1980 ; Huss, 1972).

La T.M.A. possède une odeur désagréable caractéristique au-dessus du seuil de rejet, elle est le constituant principal de ce que l'on appelle « L'Azote Basique Volatile Total » (A.B.V.T). L'ammoniac est également un élément de l'A.B.V.T. Il se forme plus tardivement, lors du processus d'altération, suite à la désamination des acides aminés par les bactéries (une petite partie est produite par autolyse). Chez les Elasmobranches il s'accumule en quantités importantes. En effet la chair de ces poissons est riche en urée, qui se décompose en dioxyde de carbone et ammoniac :

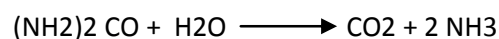


Figure 4 : Dégradation de l'urée sous l'action d'uréases bactérienne (Andrie, 2002)

b) Dégradation des acides aminés :

La majorité des odeurs dégagées lors de l'altération du poisson est le produit de la dégradation des acides aminés. La dégradation bactérienne des acides aminés soufrés conduit à la formation de sulfure d'hydrogène (H₂S), de méthyl mercaptan (CH₃SH) à partir de la cystéine et de diméthyl sulfure ((CH₃)₂S) à partir de la méthionine. Ils confèrent au poisson une odeur fétide et sont perceptibles à des niveaux de concentration très faibles, compromettant ainsi fortement la qualité. Ces odeurs sont essentiellement produites par des *Pseudomonas* type putrefaciens et occasionnellement par *P.fluorescens* et *P.fragi*.

Pseudomonas spp. est capable de produire également différents aldéhydes, cétones et ethylesters. Ces derniers sont responsables des odeurs fruitées et sont des composés caractéristiques de la dégradation des acides aminés (Gram et Leisner, 1999).

La dégradation des acides aminés est également responsable de la formation d'amines comme la cadavérine, la putrescine et l'histamine, dérivant respectivement de la lysine, l'arginine et l'histidine.

L'histamine se forme après la mort par décarboxylation bactérienne de l'histidine. Les espèces les plus fréquemment incriminées sont celles présentant une teneur élevée en histidine, comme les scombridés (thon, maquereaux) et les clupéidés. Les bactéries responsables de la production de l'histamine sont certaines *Enterobacteriaceae*, un certain nombre de *Vibrio spp.* et un petit nombre de *Clostridium* et de *Lactobacillus spp.*

Les producteurs les plus puissants sont *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* et *Hafnia alvei*, ces bactéries sont présentes chez la plupart des poissons, suite à une contamination après la capture. Elles se multiplient à 10°C, mais à 5°C, la croissance est considérablement retardée. Pour certains auteurs la capacité à produire de l'histamine est inhibée à des températures inférieures (Klausen et Huss, 1987), tandis qu'elle est encore possible pour d'autres (Ababouch et al., 1991).

Il convient de signaler qu'une fois l'histamine produite dans le poisson, le risque de maladie est considérable, l'histamine étant résistante à l'appertisation. Les symptômes apparaissent rapidement après consommation. Ils sont dus à l'effet vasodilatateur de l'histamine (rougeur, œdème, urticaire, etc.) et disparaissent spontanément en quelques heures. Même si des concentrations élevées en histamine dans les échantillons incriminés sont retrouvées lors de poussées épidémiques de symptômes cohérents avec une étiologie d'origine histaminique, la maladie n'est pas forcément reproductible par ingestion de poisson contenant une concentration équivalente en histamine. L'organisme humain peut très bien tolérer une certaine quantité d'histamine sans effets indésirables. L'histamine ingérée est détoxifiée lors du transit par au moins deux enzymes, la diamine oxydase (D.A.O) et l'histamine N-méthyltransférase (Taylor, 1986). Ce mécanisme peut cependant être défaillant si l'ingestion d'histamine et /ou d'autres amines biogènes (cadavérine, putrescine) est extrêmement élevée ou si l'action est bloquée par d'autres composés comme l'alcool ou certains médicaments. (Slatter et Lorentz, 1990)

Des composées aromatiques et N-cycliques sont formés à partir de phénylalanine, tyrosine et tryptophane. De même la valine, la leucine et l'isoleucine sont des précurseurs d'alcools et de carbonyles à courtes chaînes. Tous ces métabolites sont à l'origine d'odeurs désagréables contribuant à l'altération de la chair de poisson.

c) Dégradation des protéines :

Les bactéries impliquées dans l'altération post-mortem libèrent de nombreuses protéases. Ces enzymes participent à la perte de fermeté de la chair de poisson, notamment par la lyse des protéines du tissu de connexion et des protéines myofibrillaires. Dans les stades précoces de l'altération, les protéases bactériennes sont réprimées par la forte concentration en acides aminés libres. Dans les stades avancés, les acides aminés ayant été utilisés, les protéases sont déréprimées et reconstituent le pool d'acides aminés. (Sainclivier, 1983).

d) Dégradation des nucléotides :

L'hypoxanthine, qui est responsable d'odeurs amères lors de son accumulation dans le poisson, est le produit de la dégradation de l'ATP et de ces dérivés. Les enzymes bactériennes poursuivent la dégradation commencée par voie autolytique. L'inosine et l'I.M.P. sont transformés en hypoxanthine dont la teneur augmente au cours de la conservation (Sainclivier, 1983).

e) Dégradation des lipides :

Les acides gras sont également utilisés par les bactéries. Les produits de ces réactions sont à l'origine de cétones et d'aldéhydes à courtes chaînes conférant à la chair de poisson une odeur désagréable (Sainclivier, 1983)..

IV. Les méthodes d'appréciation de la qualité du poisson frais

Lors de son stockage post-mortem, la chair du poisson est le siège de réactions d'autolyse et de prolifération bactérienne. L'altération des produits qui en résulte évolue en sens inverse de leur état de fraîcheur et elle entraîne des modifications organoleptiques traduisant une perte de leur qualité marchande (texture, couleur, odeur, goût désagréable), de leur qualité nutritive (perte de protéines, et oxydation des lipides), et parallèlement de leur qualité sanitaire (multiplication bactérienne, apparition de substances toxiques). L'innocuité pour le consommateur et la fraîcheur sont les deux composantes de la qualité qui ont le plus préoccupé les professionnels de la filière « produits de la mer » ces dernières années. Dans cette optique des méthodes ont été développées afin d'évaluer l'état de fraîcheur des produits et de détecter la présence de substances ou organismes potentiellement dangereux.

A. Méthodes organoleptiques

Lors de la première partie nous avons évoqué les changements organoleptiques du poisson après sa capture. L'analyse de ces changements est à l'origine de méthodes permettant d'apprécier la fraîcheur du poisson. La rapidité de réponse et la bonne corrélation de l'état de fraîcheur avec la qualité globale du produit font de ces méthodes des outils indispensables aux professionnels de la filière, notamment pour les produits frais.

Ce type d'examen fait donc appel aux perceptions sensorielles (vue, odorat, toucher et goût) de l'observateur qui appréciera des caractères prédéfinis (couleur des yeux, des branchies).

Les critères choisis doivent être modifiés de façon significative par les phénomènes d'altération. A chaque caractère sont associés des descripteurs, également prédéfinis, variant selon l'état de fraîcheur ressenti (odeur : douce, légère, puis neutre, puis nauséabonde).

A chaque descripteur correspond une note ou une catégorie, le produit est évalué en estimant tous les caractères.

Lorsque la moyenne arithmétique des notes attribuées pour chaque caractère est définie pour déterminer un indice soit de fraîcheur, soit d'altération du produit, on parle de « **Méthode organoleptique chiffrée** ». Nous décrivons les principales méthodes organoleptiques utilisées pour évaluer la fraîcheur du poisson frais.

1. Description des caractères d'altération

Le tableau 5 regroupe les principaux caractères organoleptiques du poisson frais et du poisson avarié. Dans la pratique, l'état de fraîcheur se situe généralement entre ces deux extrêmes.

Tableau 5 : Description des caractères d'altération chez les téléostéens. D'après I.T.S.V. (2001)

	Poisson frais	Poisson altéré
Odeur	Légère, agréable. Rappelant l'algue Marine pour les poissons de mer ou Les herbes aquatiques pour les poissons d'eau douce	Désagréable, âcre, acide, ammoniacale, putride.
Aspect général	Brillant, avec éclat métallique et reflets irisés	Mat, sans éclat ni reflets
Rigidité du corps	Corps rigide, arqué. Consistance ferme et en même temps élastique.	Corps flasque, mou. Consistance molle, la pression des doigts laisse des marques
Sécrétions	Poisson humide. Mucus transparent, pas de sécrétions visibles.	Présentes et gluantes.
Ecailles	Fortement adhérentes, brillantes.	Soulevées, se détachent facilement.
Peau	Tendue, bien colorée, bien adhérente.	Ridée, décolorée, facilement déchirable.
Oeil	Clair, vif, brillant, luisant, convexe, transparent, occupant toute la cavité Orbitaire.	Terne, vitreux, opalin, opaque, Concave, affaissé dans l'orbite.
Opercule	Adhérent, sans taches.	Légèrement soulevé, avec des taches rouge brun.
Branchies	Humides, brillantes, roses ou rouge sang.	Sèches, grisâtres ou plombées
Abdomen	Forme normale (ni gonflé, ni affaissé, ni tendu, ni déchiré). Pas de taches.	Flasque, déformé, souvent gonflé, avec des taches colorées (bleu foncé, verdâtre ou noirâtre).
Anus	Hermétiquement fermé.	Béant, souvent proéminent.
Viscères	Lisses, propres, brillants, nacrés. Péritoine adhérent à la paroi de la cavité viscérale.	Affaissés, gonflés. Péritoine fragile.
Côte et colonne vertébrale	Adhérentes et faisant corps avec la paroi thoracique et les muscles du dos.	Soulevées, faciles à détacher sans emporter de lambeaux de muscle.
Chair	Ferme, blanche ou rose, rarement rouge (thon). Reflets en surface et à la coupe	Friable, coloration rouge ou plus ou moins brune, notamment le long de la colonne vertébrale.

2. Barème de cotation de fraîcheur européen : règlement (CEE n°2406/96)

Afin d'améliorer la qualité sanitaire des produits de la pêche, d'en faciliter l'écoulement, de prévenir des distorsions de concurrence et d'uniformiser les règles d'application du régime des prix de l'organisation commune des marchés, un règlement communautaire propose pour les principales espèces pêchées, un barème de cotation harmonisé permettant le classement des produits par lot de catégories de fraîcheur identique.

Par ordre de fraîcheur décroissante, on distingue les catégories Extra, A ou B. Les poissons non classés dans une de ces trois catégories sont considérés comme « non admis » et ne peuvent être commercialisés pour la consommation humaine.

Ce règlement s'applique à tous les produits lors de la première mise en vente. Le classement de fraîcheur est sous la responsabilité des professionnels. Les services vétérinaires ont pour mission d'effectuer un contrôle de deuxième niveau de ce classement et de vérifier, par sondage, que les produits proposés à la vente sont salubres.

Chaque lot doit être homogène quand à son état de fraîcheur et impose d'examiner les critères sur un nombre représentatif d'unité de ce lot, choisi au hasard dans l'ensemble du lot. Si un lot n'est pas homogène, il est classé dans la catégorie de fraîcheur la plus basse qui y est représentée.

Cette méthode se présente comme un test descriptif utilisant des descripteurs prédéfinis, elle est semi-quantitative puisqu'elle permet un classement dans une catégorie.

Les critères observés sont la peau, les yeux, les branchies et la chair, l'examineur devra apprécier les couleurs, les odeurs, la consistance et classer le produit dans une des 4 catégories selon la correspondance entre ses observations et les descripteurs retenus dans la grille d'évaluation. Le tableau 6 regroupe les caractères et descriptifs utilisés pour les poissons bleus.

Le classement dans les différentes catégories de fraîcheur prend également en compte les marques de pression, écorchures, souillures et décolorations que peuvent présenter les produits (Tableau 7).

Tableau 6 : Barème de cotation de fraîcheur européen des poissons bleus. D'après I.T.S.V. (2001)

Caractères observés sur le poisson	Extra	A	B	Non admis
Peau (2)	Pigmentation vive, couleurs brillantes et iridescentes. Nette différence entre surface dorsale et ventrale	Perte d'éclat et de brillance. Couleurs plus fades. Moins de différence entre surface dorsale et ventrale.	Ternie, sans éclat. Couleurs délavées. Peau plissée lorsqu'on courbe le poisson	Pigmentation très terne. Peau se détache de la chair (1)
Mucus cutané	Aqueux, transparent.	Légèrement trouble.	Laiteux.	Gris, jaunâtre, opaque (1)
Oeil	Convexe. Pupille bleue-noir, brillante. Paupière transparente	Convexe et légèrement affaissé. Pupille enfoncée. Cornée légèrement opalescente	Plat. Pupille voilée. Extravasations sanguines autour de l'œil.	Concave au centre. Pupille grise. Cornée laiteuse (1)
Branchies (2)	Rouge vif à pourpre uniformément. Pas de mucus.	Couleur moins vive, plus pâle sur les bords. Mucus transparent	S'épaississant, se décolorant. Mucus opaque.	Jaunâtre. Mucus laiteux (1)
Consistance de la chair (2)	Très ferme, rigide.	Assez rigide, ferme.	Un peu molle.	Molle (flasque) (1)
Opercules	Argentés.	Argentés, légèrement teinté de rouge ou de brun.	Brunissement et extravasations sanguines étendues.	Jaunâtre. (1)
Odeur des branchies	D'algues marines fraîche. Acre, iodée	Absence d'odeur ou odeur d'algues marines. Odeur neutre.	Odeur grasse(3) un peu sulfureuse, de lard rance ou de fruit pourri.	Odeur aigre de putréfaction(1)

(1) Ou dans un état de décomposition avancé.

(2) Pour le hareng et le maquereau en eau de mer réfrigérée les critères de la colonne A s'appliquent aussi à la catégorie Extra.

(3) Le poisson conservé dans la glace a une odeur rance avant d'avoir une odeur défraîchie ; c'est l'inverse pour le poisson en eau de mer réfrigérée.

Tableau 7 : Eléments complémentaires à prendre en compte pour le classement. D’après I.T.S.V. (2001)

Pour être classé dans la catégorie de fraîcheur :	Les produits doivent être :
Extra	Dépourvus de marques de pression ou d’écorchures, de souillures et de forte décoloration.
A	Dépourvus de souillures et de forte décoloration (une proportion minime présentant de légères marques de pression et des écorchures superficielles est tolérée).
B	Dépourvus de souillures et de forte décoloration (une petite proportion minime présentant des marques de pression et des écorchures superficielles plus marquées est tolérée).

Cette méthode est couramment utilisée notamment dans les criées. La catégorie de fraîcheur est un des facteurs qui conditionne le prix de la vente.

Ces barèmes sont également utilisés lors de l’inspection par les services vétérinaires ; ils permettent :

- de déterminer ou confirmer l’espèce examinée. En effet, certains poissons tropicaux peuvent devenir vénéneux par accumulation dans leur chair d’ichtyotoxines. La mise sur le marché des poissons le plus souvent en cause (poissons globes, lunes) est interdite réglementairement. Les poissons dont la commercialisation est autorisée sont consignés sur une liste dite positive.
- de contrôler la catégorie de fraîcheur attribuée à un lot par les professionnels et, le cas échéant, de la modifier pour assurer le respect de l’équité des transactions entre les acheteurs et les vendeurs. Les produits jugés altérés ou susceptibles d’être altérés au moment de la remise au consommateur (à l’appréciation du vétérinaire inspecteur) sont retirés de la mise sur le marché pour la consommation humaine.

- de constater la présence de parasites visibles (contrôle visuel prescrit par la décision 93/140 CEE).
- de décider de l'opportunité du recours aux examens de laboratoire.
- de vérifier la taille marchande des produits de la pêche.

Cette méthode ne s'applique cependant qu'au poisson entier et ne tient compte, dans sa conception, des différences entre les espèces, les descripteurs étant presque communs à tous les poissons conservés sous glace. Elle ne permet pas non plus d'estimer la durée de vie restante.

La classification dans les différentes catégories de fraîcheur n'est pas toujours aisée. Un poisson peut en effet présenter des caractères décrits dans 2 ou 3 catégories. L'attribution de la catégorie exige donc une grande expérience du personnel qui en a la charge, les différences de vitesse d'altération ainsi que les changements organoleptiques propres aux différentes espèces devant être pris en compte dans l'attribution finale de la catégorie.

3. Barème français de cotation chiffrée

Contrairement à la méthode européenne qui évalue l'état de fraîcheur du poisson, la méthode de cotation chiffrée estime l'état d'altération des produits. Cette méthode n'est pas officielle, mais est utilisée fréquemment comme outil d'appoint pour affiner une prise de décision. Elle permet de définir un indice d'altération chiffré qui sera confronté à la valeur seuil d'acceptation du produit. Le poisson en tranche et en filet peut également être évalué. Les caractères sont affectés d'une note chiffrée variant selon les descripteurs. Les chiffres vont croissant de 0 à 6 et correspondent aux degrés d'une altération de plus en plus avancée. L'indice d'altération est égal à la moyenne arithmétique des notes attribuées aux différents caractères observés sur le poisson (Tableau 8)

Tableau 8 : Barème de cotation chiffrée français. D'après I.T.S.V. (2001)

Caractères observés Sur le poisson		Cotation						
		0	1	2	3	4	5	6
Peau	I-Mucus	Transparent		Laiteux	Opaque	Grumeleux	Jaune épais	
	II- Pigmentation	Irisée	Couleurs chatoyantes	Couleur vives	Couleurs ternies	Terne	Décolorée	Grisâtre
Oeil	III- Teinte	Pupille noire, brillante, cornée transparente		Pupille plus terne à grise, cornée opalescente			Pupille blanchâtre, Cornée laiteuse	
	IV- affaissement	Bombé		Un peu affaissé	Plat	Concave au centre	Très concave	
Branchies	V- Teinte	Colorée brillante, Pas de mucus		Moins colorée, mate	Se décolorant	Jaunâtre	Grisâtre, Mucus laiteux	
				Mucus clair à opaque				
	VI- Odeur	Spécifique	Neutre	Douceâtre	Faiblement rance	Légèrement putride	Putride (sulfurée ou ammoniacale)	Fétide
Rigidité	VII- Chair	Ferme Translucide, lisse, brillante		Elastique	Souple	Molle	Flasque	
				Veloutée, cireuse, feutrée			Opaque	
	VIII- Paroi abdominale	Intacte		Détendue	Molle			
Péritoine	IX- Etat	Adhérent totalement		Adhérent	Peu adhérent	Détérioré	Lysé	
Colonne vertébrale	X- Couleur de la chair avoisinante	Même teinte que le reste de la chair			Rose	Rouge	Brune	
	XI- Adhérence à la chair	La colonne se brise au lieu de se détacher		Nettement adhérente	Peu adhérente		La colonne se détache facilement	
Examen Après Cuisson (1)	XII- Odeur	Algue Marine ou spécifique	Neutre	Faible ou désagréable	Aigre (acide lactique)	Plus ou moins sulfureuse	Ammoniacale	Putride
	XIII- Saveur	Spécifique	Spécifique renforcée	Spécifique atténuée	Papier mâché	Douceâtre Un peu amère	Amère, sulfurée ou ammoniacale	Nauséée -use

(1) La cuisson se pratique sur 50 grammes de chair environ dans un bécher de 250 ml recouvert d'un « verre de montre » et passé 10 minutes au bain-marie bouillant. Pour apprécier les odeurs on soulève légèrement le verre de montre après refroidissement à 50°C environ, la saveur est appréciée par la dégustation de l'échantillon.

Le nombre de caractères à apprécier est variable selon la présentation du poisson.

- Poissons entiers ou éviscérés :

- Examen externe : caractères I à VIII compris.
- Examen interne : caractères IX à XI compris.

- Poissons étêtés et éviscérés :
 - Examen à l'état cru : caractère I, II et VII à XI compris
 - Examen après cuisson : caractères XII et XIII.

- Poissons présentés en tranches :
 - Examen à l'état cru : caractères II, VII, IX et X.
 - Si possible, examen après cuisson : caractères XII et XIII.

- Poissons présentés en filets :
 - Examen à l'état cru : caractères II (si avec peau), VII et X (couleur de la chair au voisinage de l'emplacement de la colonne vertébrale).
 - Si possible, examen après cuisson : caractères XII et XIII.

Tout poisson présenté à l'état frais ou réfrigéré dont l'indice d'altération dépasse 3,0 doit être considéré comme impropre à la consommation humaine. Cette valeur peut être abaissée selon le niveau de sécurité souhaité et selon le stade de commercialisation concerné (les poissons destinés à être consommé à l'état frais pourront être retirés du marché à partir de l'indice 2.8, dans les lieux d'expéditions comme les halles à marée, les ateliers de mareyage, les grossistes).

Une correspondance entre les catégories de fraîcheur CEE et les indices d'altération à été proposée. Cette correspondance n'est pas officiellement reconnue (Tableau 9).

**Tableau 9 : Correspondance entre la méthode européenne et la méthode chiffrée française.
D'après I.T.S.V. (2001)**

Catégories de fraîcheur CEE	Correspondance approchée avec les indices de fraîcheur obtenus grâce au barème chiffré français
Extra	Egal ou inférieur à 1,3 (+/- 0,1)
A	Egal ou inférieur à 2,0 (+/- 0,1) et supérieur à 1,3 (+/- 0,1)
B	Egal ou inférieur à 3,0 (+/- 0,2) et supérieur à 2,0 (+/- 0,1)
Non Admis	supérieur à 3,0 à (+/- 0,2)

La méthode chiffrée française permet l'évaluation du poisson en filet et en tranche, comme dans la méthode européenne, mais ne prend pas en compte les différences entre les espèces et ne permet pas non plus d'estimer la durée de vie des produits.

4. Méthode Torry

La méthode Torry permet l'évaluation de la fraîcheur de quelques espèces de poisson. Cette méthode est utilisée principalement au Royaume-Uni. La feuille de score pour le poisson conservé sous glace permet l'attribution d'une note de 10 à 3, note d'autant plus basse que le poisson est altéré (Regenstein J.M., 1981). Les descripteurs utilisés correspondent aux modifications organoleptiques rencontrées lors de l'entreposage sous glace au fur et à mesure du temps écoulé depuis la capture. Chaque caractère observé peut influencer considérablement la note finale du produit.(Tableau 10).

Tableau 10 : Grille d'évaluation de l'index Torry pour le poisson cuit. (Regenstein J.M., 1981).

Score	Odeur	Flaveur	Texture, apparence et Sensation en bouche
10	Initialement faible Odeur de bonbon, de lait bouilli, d'amidon puis renforcement de ces odeurs.	Mal égoutté, métallique, d'amidon. Initialement non sucré mais flaveur de la viande devenant légèrement sucrée.	Sèche, qui s'émiette facilement avec de courtes fibres résistantes.
9	Fruit de mer, d'algues marines, de lait bouilli, de plantes vertes.	Douce, de viande crémeuse, De plante verte.	Succulente. Fibres initialement fermes, se ramollissent pendant le stockage. L'apparence blanche et opaque initialement devient jaunâtre et cireuse pendant le stockage.
8	Perte des odeurs, odeur neutre.	Perte des odeurs, odeur neutre.	
7	Copeau de bois, de sève.	Neutre	
6	Lait concentré, caramel, « caramel au beurre »	Insignifiant.	
5	De cruche de lait, pommes de terre bouillies, de linge bouilli.	Légèrement aigre.	
4	Acide lactique, lait tourné	Amère, aigre.	
3	Acides gras volatils (acide acétique, butyrique), de composte, savonneuse, de navet	Forte, de bière, de caoutchouc, de soufre.	

5. La méthode de l'indice de qualité.

La méthode de l'indice de qualité (QIM en anglais, pour Quality Index Method) est une méthode imaginée par l'institut de recherche des aliments de Tasmanie, puis développée dans les pays nordiques, dans certains pays de la communauté européenne, notamment au Danemark à l'institut de recherche pour les produits de la pêche. Comme la méthode chiffrée française, elle utilise des caractères sensoriels significatifs (odeur, texture, état de l'œil, etc.) auxquels sont attribués des descripteurs et une note variant de 0 à 4. Le score final est l'addition des scores obtenus pour chacun des caractères analysé, on l'appelle index de qualité. Cet index varie de 0 pour le poisson très frais à une valeur d'autant plus élevée que le poisson est altéré. Chacun des caractères observés n'influence que partiellement le résultat final. A la différence de la méthode chiffrée française, les caractères observés ainsi que les descripteurs sont différents d'une espèce à l'autre. De plus, pour le poisson frais entier, cette méthode permet de prévoir la durée de vie restante du produit. (Hyldig G. et Nielsen J., 1997)

Les méthodes organoleptiques restent très utilisées à tous les niveaux de la filière pour l'évaluation de la qualité des produits. La rapidité, le faible coût, la non destruction des produits évalués sont les principaux atouts de ces méthodes. Le développement récent de nouveaux protocoles est la preuve de l'intérêt persistant pour ces méthodes.

Cependant, l'examen organoleptique reste subjectif et nécessite un bon savoir faire du personnel qui l'utilise. De plus, ce type d'examen ne permet pas de détecter la présence de certaines substances (amines biogènes, toxiques, toxines) ou de certains agents pathogènes (virus, bactéries, parasites). Ces carences ont conduit les professionnels et chercheurs de la filière à développer d'autres méthodes permettant d'apprécier la qualité du poisson.

B. Méthodes utilisant le dosage de composés chimiques :

Les phénomènes d'autolyse et les réactions métaboliques des bactéries en multiplication modifient considérablement les concentrations de certains composés de la chair du poisson. Les composés utilisés comme substrat dans ces réactions voient leur concentration diminuer et les métabolites qui en résultent s'accumulent s'ils ne sont pas réutilisés.

Divers composés ont été proposés comme indicateurs de fraîcheur ou d'altération. De plus, de nombreuses techniques ont été développées pour un même composé.

1. Dosage de l'azote basique volatil total (A.B.V.T.) ou de ces constituants

Les amines volatiles sont responsables de l'odeur et la flaveur caractéristiques du poisson. La concentration plus ou moins importante du poisson en amines volatiles a des conséquences sur l'appréciation du produit par les consommateurs. Ces amines sont présentes dans les poissons de mer à des niveaux très faibles juste après la capture. Leur concentration varie ensuite suivant les espèces, la température, le temps de conservation et d'autres facteurs. Ces amines sont les constituant les plus caractéristiques et les plus importants de l'azote non protéique. Il s'agit de l'ammoniac, du diméthylamine (DMA), du triméthylamine (TMA), et de l'oxyde de triméthylamine (OTMA) qui est la source principale de DMA et TMA. L'azote basique volatil total (ABVT) est un mélange d'ammoniac, de DMA et TMA. (Andrie, 2002).

Les concentrations en amines volatils totales dans le poisson juste après la capture varient peu d'une espèce à l'autre à l'exception de l'OTMA. Jusqu'en 1970, les études scientifiques ne signalaient pas la présence de DMA ni de TMA dans le muscle du poisson frais. L'utilisation de méthodes d'analyse plus modernes a révélé la présence de faible quantité de DMA et de TMA.

Le tableau 11 indique les concentrations moyennes des principaux composants de l'ABVT pour différentes espèces de poisson juste après la capture :

Tableau 11 : Concentration moyennes en DMA, TMA, OTMA, et ABVT dans la chair de poisson juste après la capture d'après Oehlenschläger, 1997.

Ammoniac	10 mg/100 g en moyenne (de 7 à 15 mg/100 g)
DMA	0,2 mg/100 g en moyenne (de 0,1 à 0,4 mg/100 g)
TMA	2mg/100 g en moyenne (de 1 à 4 mg/100g)
OTMA	Très variable selon les espèces : -Espèces pélagiques comme le hareng, le maquereau : <30 mg/100g. -Gadidés, merlu : 120 mg/100g. Elasmobranches : Valeurs très supérieures.
ABVT	20 mg/100g en moyenne (10 à 25 mg/100g)

a) Techniques utilisées :

De nombreuses méthodes ont été développées pour la mesure des différents constituants de l'ABVT. La communauté européenne a fixé par la décision communautaire du 8 mars 1995 des seuils pour certaines espèces ainsi que des méthodes de référence pour la mesure de l'ABVT. Ces méthodes sont la méthode d'entraînement à la vapeur (méthode d'Antonacopoulos et de Billon), et la méthode de micro diffusion de Conway.

Le Tableau 12 regroupe différentes méthodes utilisées en fonction du constituant recherché.

Les méthodes officielles CEE sont couramment utilisées notamment pour préciser les résultats de l'examen organoleptique. Les autres méthodes nécessitant un appareillage sophistiqué ne sont utilisées que pour la recherche. Seul les capteurs de gaz et la méthode d'analyse des gaz en flux continu (Sadok, 1996) permettraient la mise au point de méthodes applicables à l'industrie.

Tableau 12 : Différentes techniques utilisées pour la mesure de la teneur en amines volatiles. Source : Oehlenschläger, 1997.

Ammoniac	Technique de microdiffusion. Test enzymatique. Chromatographie des gaz. Electrodes à ion spécifique. Capteurs de gaz (Nez électronique)
DMA	Méthodes photométriques Electrodes spécifiques Chromatographie des gaz Spectroscopie infrarouge Capteurs de gaz (Nez électronique)
TMA	Méthodes photométriques Electrodes spécifiques Microdiffusion Chromatographie des gaz Spectrophotométrie de masse Chromatographie des gaz de l'espace de tête Capteurs de gaz (Nez électronique) Méthode de distillation par la vapeur
OTMA	- Microdiffusion
ABVT	Méthode de microdiffusion décrite par Conway et Byre (1933) Méthode de distillation directe décrite par Antonacopoulos (1968) Méthode de distillation d'un extrait déprotéinisé par l'acide trichloracétique Billon (1968) Mesure en flux continu (Flow injection analyse)

b) Evolution de la concentration des différentes amines volatiles durant le stockage sous glace :

Lors du stockage sous glace, on constate une augmentation des concentrations en DMA, TMA et ABVT, et une diminution de la concentration en OTMA. Des études menées sur différentes espèces conservées sous glace pendant 4 semaines ont permis de connaître l'évolution dans le temps de la concentration des différents constituants. (Oehlenschlager, 1997).

- **Ammoniac :**

Dans les premiers jours de stockage, l'ammoniac contenu dans les poissons de mer conservés sous glace reste à une concentration relativement voisine de celle du poisson vivant. Chez les poissons de petite taille, on constate une diminution de la concentration pendant cette phase. La concentration augmente ensuite (entre le septième et le douzième jour) et se poursuit toute la durée du stockage, la concentration finale étant très variable d'une espèce à l'autre. L'ammoniac s'accumule précocement et atteint des concentrations très importantes chez les Elasmobranches. (Andries, 2002).

L'ammoniac est donc un mauvais indicateur de l'état de fraîcheur, c'est simplement un indicateur d'une altération avancée.

- **Diméthylamine :**

L'évolution de la concentration en DMA est différente pour les poissons qui synthétisent la OTMAase (cette enzyme permet la transformation de l'OTMA en DMA et formaldéhyde) de ceux qui en sont incapables. Chez les poissons qui possèdent cette enzyme (haddock, merlan) on observe durant la première semaine une augmentation incessante de la concentration avec des valeurs comprises entre 4 et 7mg de DMA pour 100g. On constate un arrêt soudain de cette augmentation après une semaine environ. La concentration en DMA oscille autour de 6mg/100g les jours suivants et pendant toute la durée du stockage. L'inhibition par l'oxygène de l'enzyme OTMAase est à l'origine de cet arrêt brutal de l'accumulation de DMA.

Après la première phase de stockage, l'oxygène peut diffuser au sein du muscle de poisson du fait des modifications de sa structure consécutive aux phénomènes autolytiques et à l'altération bactérienne. De plus les bactéries transforment l'OTMA en TMA ce qui inhibe également l'action de l'OTMAase endogène (Andries, 2002).

Chez ces espèces le DMA est un très bon indicateur de fraîcheur pendant la première semaine de stockage.

- **Triméthylamine :**

Comme l'ammoniac, le TMA conserve une concentration relativement stable pendant une dizaine de jours. Ensuite, sous l'effet de l'activité microbienne la concentration en TMA augmente pendant toute la durée du stockage. Le TMA qui est produit chez toutes les espèces de poisson est un excellent indicateur de l'altération bactérienne. Par contre il n'apporte aucune information les 10 premiers jours de conservation sous glace. (Andrie, 2002)

- **Azote basique volatil total :**

Durant la première semaine de stockage sous glace, le taux d'ABVT reste proche de celui du poisson vivant et on constate même parfois une légère diminution.

La concentration augmente ensuite constamment pour atteindre des valeurs comprises entre 25 et 50mg/100g lorsque le poisson devient impropre à la consommation.

La mesure de la concentration est d'usage plus restreint chez les poissons gras. En effet chez certaines espèces, on ne peut mesurer que de faibles variations de la concentration durant toute la période de stockage.

L'ABVT comme le TMA est un bon indicateur de l'altération du poisson, mais il ne peut pas être utilisé comme un indicateur de fraîcheur. (Andrie, 2002).

- **Oxyde de triméthylamine :**

L'OTMA est la seule amine dont la concentration décroît durant le stockage sous glace. Cette diminution de la concentration en fonction de la durée de stockage est presque linéaire.

L'OTMA est donc un bon indicateur de l'état de fraîcheur et du niveau d'altération.

Cependant il faut absolument connaître, pour utiliser ce paramètre, la concentration initiale en OTMA qui varie considérablement d'une espèce à l'autre. Cet indicateur est donc réservé à des espèces dont les caractéristiques sont bien connues.

c) **ABVT et TMA: Critères recommandés pour les poissons et les céphalopodes**

- **Poisson téléostéens :(sardine, cabillaud, merlan)**

Tableau 13 : Recommandation pour l'utilisation de l'ABVT et du facteur P pour apprécier l'état d'altération du poisson (Téléostéens). Source : Jouve, 1996

ABVT mg N/100g		P = TMA/ABVT %	Etat de fraîcheur
Cas général	Exception Lieu noir, sébastes		
<20	<20	< 17%	Satisfaisant
20 à 25	20 à 30	< 17 à 40 %	Acceptable
>25	>30	>40 %	Non satisfaisant

- **Poisson sélaciens (roussettes, saumonettes, raies) :**

Tableau 14 : Recommandation pour l'utilisation de l'ABVT pour apprécier l'état d'altération des poissons sélaciens. (Malle et al, 1989)

Etat de fraîcheur	ABVT (mg azote/ 100g)
Non satisfaisant	> 50

- **Céphalopodes (encornet, poulpe, seiche) :**

Tableau 15: Recommandation pour l'utilisation de l'ABVT pour apprécier l'état d'altération des Céphalopodes crus. Source : CVPM, 2006

Etat de fraîcheur	ABVT (mg azote/ 100g)
Satisfaisant	< 20
Acceptable	20 à 25
Non satisfaisant	> 25

2. Dosage des amines biogènes :

Les amines biogènes sont définies comme des molécules biologiquement actives sur le système nerveux central et sur le système vasculaire. Le poisson peut contenir de l’histamine, de la cadavérine, de la putrescine, de la spermine, de la spermidine, de la méthylamine de la tryptamine. Toutes ces amines proviennent de la décarboxylation bactérienne des acides aminés. L’ingestion de ces amines peut entraîner des symptômes voisins de ceux d’une intoxication microbienne.

Le contrôle de la teneur en histamine est rendu obligatoire par la directive 91/493 CEE pour les espèces (Scrombidés, Clupéidés, Engraulidés, Coryphaenidés) les plus fréquemment impliquées dans les cas d’intoxication à l’histamine.

a) **Amines biogènes et indices de fraîcheur :**

La mesure des concentrations en amines biologiques peut également être utilisée comme indicateur de l’altération du poisson.

La mesure des concentrations des différentes amines est généralement mesurée par méthodes chromatographiques.

Une correspondance a pu être établie entre la valeur de l’index et des résultats obtenus par des méthodes sensorielles. Ces méthodes ne sont pas utilisées en routine, mais l’amine index (figure 5) est un bon indicateur de la fraîcheur et de l’altération. (Duflos et al.,1999).

$$\begin{aligned}
 \text{AI} &= \frac{\frac{\text{NH}_4^+}{1000} + \text{Put.} + \text{Cad.} + \text{His.} + \text{Tyr} + \text{Tryp.}}{\frac{\text{NH}_4^+}{1000} + \text{Put.} + \text{Cad.} + \text{His.} + \text{Tyr} + \text{Tryp.} + \text{Met.} + \text{Spd.} + \text{Spm}} \times 100 \\
 \text{AI} &= \frac{\text{Put.} + \text{Cad.} + \text{His.}}{\text{Put.} + \text{Cad.} + \text{His.} + \text{Tyr} + \text{Tryp.} + \text{Met.} + \text{Spd.} + \text{Spm}} \times 100
 \end{aligned}$$

Figure 5 : Indices d’altérations utilisant les concentrations en amines biogènes (Duflos et al., 1999)

b) Dosage de l'histamine :

L'histamine est une amine aromatique thermostable (elle n'est donc pas détruite par la chaleur), issue de la **décarboxylation de l'histidine**, essentiellement par voie bactérienne (figure 6), et responsable de l'intoxication dite « histaminique ». On trouve l'histidine dans les pigments (hémoglobine, myoglobine....). Les poissons à chair rouge (thon, maquereau, sardine, anchois....) présentent la plus forte prédisposition à développer l'histamine. Le respect des conditions d'hygiène et de la chaîne du froid constitue les seuls moyens de maîtrise efficaces du risque histamine. (Taylor, 1991).

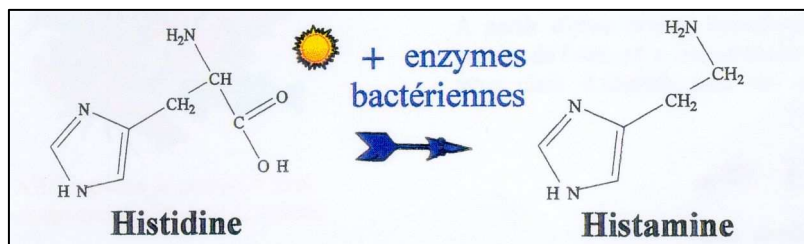


Figure 6 : Décarboxylation de l'histidine (Etienne, 1998)

La recherche de l'histamine est pratiquée de façon aléatoire et par sondage.

L'arrêté du 29 décembre 1992 modifié et le règlement (CE) n° 2073/2005 de la commission du 15 novembre 2005 précisant les conditions d'appréciation de la qualité des produits de la pêche fabriqués à partir d'espèce de poissons associées à une grande quantité d'histidine (exp. : anchois, coryphènes, sardines et thons) stipulent :

- la recherche d'histamine doit être pratiquée sur 9 échantillons prélevés pour chaque lot.
- la teneur moyenne de ces 9 échantillons ne doit pas dépasser 100 ppm (par exemple : 1mg par kg).
- deux échantillons, au plus peuvent avoir une teneur dépassant 100 ppm mais restant inférieure à 200 ppm.
- aucun échantillon ne doit avoir une teneur dépassant 200 ppm.

Il convient de tenir compte du délai de rendu des résultats d'analyse pour décider du devenir du lot en fonction du stade de commercialisation.

La méthode d'analyse la plus courante est la méthode chromatographique liquide haute pression HPLC.

3. Dosage des métabolites de l'ATP :

Le contrôle de la dégradation de l'ATP est utilisé comme indicateur chimique de l'état de fraîcheur du poisson. En effet, les concentrations en ATP et en catabolites qui en résultent évoluent parallèlement avec la perte de fraîcheur perçue par l'analyse sensorielle. La dégradation de l'ATP coïncide avec cette perte de fraîcheur mais n'en est pas nécessairement responsable.

a) **Le facteur K :**

La concentration totale de l'ATP et ses métabolites est relativement constante. Pour suivre le processus de dégradation de l'ATP, on utilise le facteur K, rapport entre les catabolites terminaux et l'ensemble des composés impliqués dans la chaîne de réaction.

$$K (\%) = \frac{[INO] + [Hx]}{[ATP] + [ADP] + [AMP] + [IMP] + [INO] + [Hx]} \times 100$$

Les concentrations en inosine et hypoxanthine sont peu élevées dans le poisson juste après la mort, la valeur de K est donc faible. Au cours du stockage, l'ATP est rapidement dégradé, l'inosine et l'hypoxanthine s'accumulent et la valeur de K augmente. Le facteur K est le reflet de changements autolytiques précoces ; il permet d'évaluer l'état de fraîcheur du poisson dès les premiers jours de stockage.

Au cours du stockage sous glace, la valeur du facteur K évolue de façon linéaire chez la plupart des espèces (Ehira et Uchiyama, 1986). Cependant la valeur initiale et finale du facteur K est variable selon l'espèce, le mode de capture, le sexe, le stade physiologique, la saison, le mode de mise à mort (Hennehan, 1997). Une base de données regroupant les valeurs du facteur K en fonction de ces différents facteurs est donc nécessaire en vue de son utilisation courante.

b) **Mesure du facteur K :**

L'évaluation du facteur K nécessite la mesure de la concentration de six métabolites. Cette procédure étant un peu contraignante, il a été suggéré de ne pas toutes les utiliser. Comme

l'ATP, l'ADP et l'AMP sont rapidement dégradées après la mort. Certains chercheurs ont simplifié la formule du facteur K en intégrant simplement l'IMP, l'inosine et l'hypoxanthine. Pour certaines espèces il y a une bonne corrélation entre le facteur K_1 et le facteur K.

$$K_1 = \frac{[\text{INO}] + [\text{Hx}]}{[\text{IMP}] + [\text{INO}] + [\text{Hx}]} \times 100$$

De nombreuses méthodes ont été développées pour mesurer K et K_1 . Les techniques utilisées peuvent être classées en deux catégories :

Les méthodes chromatographiques et les méthodes enzymatiques.

Parmi les méthodes chromatographiques, la méthode HPLC de Ryder est la plus couramment utilisée, elle permet une évaluation du facteur K en une heure, et sert de référence pour évaluer la pertinence des résultats obtenus par les autres méthodes.

Les méthodes enzymatiques permettent d'évaluer l'intensité de la réaction entre une enzyme et un métabolite, soit grâce à une électrode mesurant l'oxygène consommé lors de la réaction, soit grâce à un changement de coloration (Papier réactif permettant une évaluation semi-quantitative).

Le KV-101 Freshness Meter de la firme japonaise Oriental Electric, le BIOFRESH système de la compagnie japonaise New Japan Radio et le système Microfresh de la société canadienne Pégasus Instrument utilisent une électrode à oxygène. Le papier réactif est commercialisé par la société française Transia-Diffchamb.

Les systèmes utilisant des électrodes à oxygène permettent une mesure plus précise de la valeur K, que le papier réactif mais ils sont beaucoup plus coûteux, les électrodes devant être régulièrement remplacées.

c) Utilisation du facteur K dans l'industrie :

En Europe le facteur K est relativement peu utilisé dans l'industrie malgré l'existence d'instruments et de technologies permettant sa mesure. Toutes les méthodes de mesure sont

coûteuses. De plus la méthode organoleptique européenne permet une reconnaissance fiable et rapide des produits très frais (catégorie extra).

Ces éléments ne motivent donc pas les industriels à investir dans des instruments de mesure du facteur K.

Au Japon où de nombreux poissons sont consommés crus, des critères de fraîcheur drastiques sont imposés.

Le facteur K est utilisé préalablement à la consommation de poisson cru. Si le facteur K est inférieur ou égal à 20 % le produit peut être consommé cru, si la valeur est supérieure, le poisson doit être consommé cuit (Watanabe, 1993). Le poisson pouvant être consommé cru est vendu beaucoup plus cher.

4. Analyse des composés volatils :

L'odeur est un des paramètres le plus important dans l'évaluation de la fraîcheur du poisson. Le poisson frais exhale un parfum délicat et caractéristique de l'espèce. Ces odeurs s'estompent ensuite et laissent place à des odeurs douceâtres, aigres ammoniacales et même putrides lorsque le poisson est altéré. Ce sont les composés volatils libérés du stockage qui sont à l'origine des odeurs perçues.

a) Intérêts de l'analyse des composés volatils :

La perte de fraîcheur consécutive à l'altération du poisson met en jeu des réactions complexes, influencées par de nombreux paramètres. Ainsi, il a été suggéré qu'il n'existait pas un seul indicateur de la perte de fraîcheur mais plutôt une combinaison d'éléments permettant de rendre compte des multiples changements se produisant au sein de la chair de poisson.

Les composés volatils contribuant aux changements d'odeur peuvent être utilisés pour apprécier l'état de fraîcheur ou d'altération du poisson. En effet, l'étude des différents composés volatils retrouvés dans le poisson durant sa conservation sous glace a permis de mettre en évidence l'origine chimique des différentes odeurs perçues durant toute la durée de vie du produit.

Les composés volatils ont pu être classés en différentes catégories en fonction de l'impact de l'odeur qu'ils génèrent sur la qualité générale du produit (poisson très frais, poisson altéré), de leur origine (phénomènes d'autolyse, métabolisme des bactéries), de leur structure chimique (Tableau 16)

Tableau 16 : Catégories d'odeur du poisson perceptibles lors de son stockage et exemples de composés impliqués dans la formation de ces odeurs. D'après Olafsdottir et al., 1997.

Odeur	Classe chimique	Exemple de composé	Description de l'arôme	Seuil de détection
Odeurs du poisson frais Caractéristiques de l'espèce	Alcools C₆-C₉ carbonyles	Hexanal/ _t -2-hexenal	Vert, d'aldéhyde	4,5ppb/17ppb
		1-octen-3-ol, 1-octen-3-one	champignon	10ppb/0,009ppb
		1,5-octadiène-3-ol	terre grasse, champignon	10ppb
		1,5-octadiène-3-one	géranium	0,001ppb
		2,6-nonadienal	concombre	0,001ppb
		3,6-nonadienol	concombre, melon	10ppb
	Bromophénols	2,6-dibromophénol	Iode, crevette	0,0005 µg/kg
		2,4,6-tribromophénol	d'eau de mer	0,6 µg/kg
		2-bromophénol	Saveur marine	
	Composés azotés pycycliques	Pyrrolidine Pipéridine	terre	
Odeurs issues de l'altération microbienne	Alcools et carbonyles à courte chaîne	Ethanol, propanol, butanol	solvant	1-100ppm
		Acétone, butanone	solvant	
		3-méthylbutanal	malt	0,06ppm
		2-méthylbutanal	malt	0,04ppm
	Amines	Ammoniac	ammoniacale	110ppm
		TMA	De poisson ammoniacal	30ppm
		DMA		0,6ppm
		Histamine, putrescine, cadavérine	Putride, pourri	
	Composés sulfurés	Hydrogène sulfide	Souffre, œufs pourri	5-40ppm
		Méthylmercaptan	Pourri, chou	0,05ppm
		Méthylsulfide	chou	0,9 µg/kg
		Diméthyl disulfide	Putride, oignon	12ppm
		Diméthyl trisulfide	Putride, chou	0,01ppm
		Bis-méthylthiométhane	L'ail	0,3
	Aromatiques	Alcool Phenethyl	Viellies roses	
		Phénol	Phénolique	2ppm
		P-crésol	Fumier de cheval, Parc à cochons	300 µg/kg
	Composés azotés cycliques	Indole	De naphtaline, fécale	
		Scatole		
	Acides	Acide acétique	Aigre, pourri	34ppm
		Acide butyrique	Vieilles chaussettes	33ppm
		Acide iso butyrique		
Odeurs provenant des phénomènes d'oxydation	Aldéhydes insaturés	Hexanal	Vert, de plante	4,5ppb
		C4-heptanal	De carton, de pomme de terre	0,04ppb
		2,4heptadienal	De poisson rancis	

b) Méthodes de mesure :

Des méthodes chromatographiques permettent de mesurer la teneur des différents composés volatils. Ces méthodes sont destructrices pour les produits (extraction au préalable des différents composés), nécessitent des équipements de laboratoire et un personnel qualifié.

De telles techniques ne peuvent donc pas être utilisées en routine dans l'industrie.

Cependant la nécessité grandissante de méthodes rapides permettant d'évaluer la teneur de certains composés volatils a conduit au développement d'un « nez électronique ».

Ces dernières années, de nombreuses recherches ont été conduites sur les différents types de capteurs de gaz électrochimiques et ont abouti à la commercialisation de capteurs permettant la détection de substances volatiles dans divers produits alimentaires.

Plusieurs appareils ou nez électroniques utilisant des capteurs de gaz sont disponibles dans le commerce, leur application dans la filière produits de la mer est encore en cours d'expérimentation, mais les premiers résultats sont très encourageants (Olafsdottir, 1997).

Un nez électronique, permet la mise en évidence de composés volatils dans l'espace de tête (volume d'air situé autour du prélèvement) sans extraction au préalable des divers constituants. L'analyse se fait soit directement (espace de tête statique), soit après diffusion d'un gaz inerte à travers le prélèvement de manière à acheminer les différents composés vers l'unité de mesure (espace de tête dynamique) (Olafsdottir, 1997).

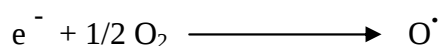
Cependant, ces méthodes rapides ne permettent que la détection des composés volatils dont la teneur est élevée, comme les composés sulfurés, les amines et les alcools à courtes chaînes. Les composés volatils responsables des odeurs caractéristiques du poisson frais ne sont présents qu'à une faible concentration, leur analyse par les méthodes rapides n'est donc pas possible.

Les nez électroniques pourront donc bientôt être utilisés pour estimer l'état d'altération du poisson. Les méthodes plus lourdes sont indispensables à la mise au point des multi capteurs de gaz et doivent encore être développées pour affiner la connaissance sur l'évolution des divers composés volatils durant le stockage du poisson.

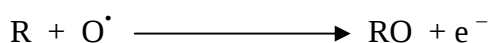
c) Fonctionnement d'un nez électronique, exemple du Fox-2000 :

Le Fox 2000, nez électronique commercialisé par la société française alpha-MOS, est constitué d'un générateur d'espace de tête, d'une unité contenant les capteurs à gaz et d'un ordinateur permettant l'enregistrement et l'interprétation des données. De l'air comprimé est utilisé comme gaz transporteur est contenu dans un cylindre avec de l'eau, de manière à créer de l'air humidifié. Cet air est envoyé sous pression dans le récipient contenant le prélèvement. Le gaz véhiculant les différents composés volatils est alors acheminé vers l'unité de mesure. Le taux d'humidité et la température dans le récipient contenant le prélèvement sont contrôlés et peuvent être modifiés.

Les capteurs, au nombre de six, sont en oxyde de métal. Lors du fonctionnement ces capteurs permettent la réaction suivante :



L'oxygène réagit ensuite avec les gaz et les molécules odorantes (R), réaction conduisant à la formation de molécules combinées (RO) et à la libération d'un électron (e^{-}).



Ces électrons entraînent une diminution de la résistance du capteur. La résistance du capteur diminue donc en présence d'odeurs. L'importance de cette baisse dépend de la nature de la molécule et du type d'oxyde de métal utilisé.

Un capteur est spécifique s'il réagit uniquement avec un groupe de composés (par exemple les alcools).

En général les capteurs de gaz à oxyde de métal possèdent une faible spécificité. Il existe par exemple des capteurs sensibles aux composés sulfurés, aux aldéhydes, aux amines et composés ammoniacaux.

Des logiciels permettent d'interpréter les résultats (Smelt A.J., 1997)

Les dosages chimiques de composés témoins ou responsables des phénomènes d'altérations permettent, dans certaines conditions, d'évaluer le degré de fraîcheur ou d'altération du poisson frais. Cependant aucun composé ne peut prétendre être utilisé pour toutes les espèces et sur toute la période d'entreposage. Ces examens nécessitent encore des équipements lourds et sont souvent destructifs pour les échantillons testés. Le développement des multi-capteurs à gaz permettra probablement bientôt de s'affranchir de ces contraintes et on peut imaginer prochainement une utilisation en routine des méthodes chimiques grâce à l'analyse d'un nombre élevé d'échantillons.

Les recherches actuelles s'intéressent également à l'évolution des protéines (myofibrillaires, sarcoplasmiques), des lipides (ou produits d'oxydation comme les diènes et les triènes) et des différents anti-oxydants lors de l'entreposage post mortem comme indicateurs de fraîcheur, notamment des premiers signes d'altération.

C. Méthodes microbiologiques

L'altération microbienne est la principale cause de perte de la qualité de la chair du poisson. Même si le produit est conservé sous glace, le développement bactérien n'est pas stoppé. Les bactéries utilisant différents constituants pour leur métabolisme, ceci entraînant des changements de texture, le développement d'odeurs désagréables et une perte de la qualité nutritionnelle. La qualité sanitaire du poisson peut également être compromise par le développement de bactéries initialement présentes (bactéries indigènes) ou ayant contaminé le poisson lors de manipulations. Des méthodes appelées essais microbiologiques ont été développées afin de déceler les bactéries pathogènes (*Salmonella*, *V. parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli*) les organismes qui pourraient signer une de contamination fécale (*E. coli*) ou d'autres type de contamination en général ou de pratiques de fabrication défectueuses (bactéries coliformes, streptocoques fécaux, numération sur lames des aérobies). Des normes ou critères microbiologiques ont été fixés pour la commercialisation de certains poissons ; elles fixent les qualités admises pour que le produit soit de qualité satisfaisante.

L'analyse microbiologique apporte peu de renseignements sur la qualité et l'hygiène des manipulations pour les produits peu manipulés comme les produits entiers, éviscérés, étêtés ou conservant l'aspect du poisson entier. Pour les filets darnes et autres morceaux de poissons frais, par contre, le contrôle bactériologique est réalisé selon un plan d'échantillonnage adapté à la production et doit être intégré dans un plan global de gestion de la qualité de type HACCP.

1. Echantillonnage

Le nombre, la taille et la nature des échantillons prélevés à des fins analytiques influencent considérablement les résultats. Un lot peut être composé d'unités présentant d'importantes différences de qualité microbiologique. Il faut donc prendre en considération un certain nombre de facteurs avant de choisir un plan d'échantillonnage (CNERNA-CNRS, 1996) . Ces facteurs sont les suivants :

- Objectifs des essais
- Nature du produit et du lot à échantillonner
- Nature de la procédure d'analyse

Un plan d'échantillonnage peut se baser sur l'indication suivante : présence ou absence d'un micro-organisme. Ce plan est décrit au moyen de deux chiffres, « n » étant le nombre d'individus testés et « c » le nombre maximum de résultats positifs admissibles. Dans un plan d'échantillonnage par attributs à deux classes, chaque individu est classé acceptable ou inacceptable. Dans certains cas la présence d'un organisme comme *Salmonella* sera inacceptable. Dans d'autres cas, on choisira une limite « m » qui sépare un dénombrement acceptable d'un dénombrement inacceptable. Le plan d'échantillonnage à deux classes rejettera le lot si sur « n » échantillons analysés plus de « c » sont inacceptable.

Dans un plan d'échantillonnage à trois classes, « m » sépare les dénombrements satisfaits des dénombrements acceptables, tandis que le chiffre « M » indique la limite entre les dénombrements acceptables et les dénombrements inacceptable.

Le degré de sécurité du plan d'échantillonnage dépend des chiffres retenus pour « c » et « n ». Il est démontré qu'une valeur élevée de « n » et une faible valeur de « c » réduisent le risque d'accepter des lots contenant le même nombre d'individus défectueux. La commission internationale des spécifications microbiologiques des denrées alimentaires (ICMSF) propose un niveau de sévérité du plan d'échantillonnage en fonction du degré de risque que comporte le produit alimentaire considéré. Le tableau 17 reproduit les plans d'échantillonnage et les limites microbiologiques pour le poisson frais.

Tableau 17: Plan d'échantillonnage et limites microbiologiques recommandées pour le poisson frais et produits de la mer présentant un niveau de risque identique (Huss,1994).

PRODUIT	Essai	Cas	Nombre de Classes	n	c	Limite par g ou par cm ²	
						m	M
Poisson frais et poisson congelé ; poisson fumé à froid	NLA ¹	1	3	5	3	5 X 10 ⁵	10 ⁷
	E.Coli	4	3	5	3	11	500

NLA¹ : Numération sur lame des aérobies (effectuée de préférence à 21-25° C sur gélose ric en élément nutritifs, non sélective).

2- Essais microbiologiques :

Le poisson frais est soumis à un certain nombre d'essais microbiologiques, d'une part par l'industrie en vertu des contrats qu'elle a signée et à usage interne et d'autre part par les autorités pour vérifier que l'état microbiologique est conforme à la réglementation en vigueur.

a) La numération totale des organismes viables ou la numération sur lames des aérobies mésophiles :

Elle se définit comme le nombre de bactéries (ufc/g) présentes dans un produit alimentaire et obtenues dans des conditions de culture optimales. Par conséquent, la numération totale des organismes viables ne mesure nullement la population bactérienne « totale », mais uniquement la fraction de la microflore susceptible de produire des colonies dans le milieu employé dans des conditions d'incubation spécifique (30°C pendant 72 heures en aérobiose sur une gélose nutritive pour la flore aérobie mésophile la plus fréquemment utilisée).

La composition du milieu, notamment la concentration en chlorure de sodium, a une incidence majeure sur les dénombrements. La température d'incubation des lames a également une influence considérable sur le nombre des colonies finale comptées pour un même échantillon. Les dénombrements sont plus élevés à 25°C qu'à 30°C. De même, ils sont plus élevés à 20°C qu'à 25°C. Ceci confirme que la flore mésophile n'est pas dominante.

Il en résulte que la numération totale de la flore aérobie mésophile n'est pas reconnue comme standard, mais comme simple recommandation pour les produits conservés sous glace et destiné à être consommés après cuisson préalable.

Les recherches actuelles visent à abandonner la flore mésophile et à rechercher une microflore plus significative. Des recherches ont été engagées sur des flores « total » en faisant varier deux paramètres essentiels : température d'incubation et taux de sel du milieu de culture. Aucun standard ne précise actuellement les modalités de réalisation de ces essais.

Le nombre important de facteurs de variation dans la réalisation et l'interprétation de ces essais ne permet pas de dégager de critères microbiologiques utilisables (Gibson et Ogden, 1997).

En outre, la numération totale ne permet pas de différencier les types de bactéries et l'on pourra donc retrouver des niveaux similaires de numération totale alors même que l'activité des bactéries pourra varier considérablement. De même, des numérations élevées résultant d'une croissance microbienne sont plus susceptibles de rendre défectueux les

produits alimentaires que des niveaux similaires provoqués par une contamination massive d'origine récente. Il en résulte que la numération totale est sans valeur lorsqu'il s'agit d'évaluer l'état présent de la qualité organoleptique.

b) E.coli

Cet organisme a pour habitat naturel les intestins des humains et des animaux vertébrés. Dans les eaux tempérées, il est absent des poissons et des crustacés au moment de la capture (sauf eaux fortement polluées). En outre, les poissons doivent toujours être conservés à des températures inférieures à celles qui favorisent la multiplication. S'il y a présence d'un petit nombre de bactéries, cela signifie qu'il y a eu une contamination primaire des produits. S'il y a présence d'un grand nombre de bactéries, c'est un signe d'une température inappropriée lors des manipulations. L'absence de *E.coli* n'entraîne pas nécessairement celle des autres pathogènes entériques (Mossel 1967, Silliker et Gabis 1976).

c) Coliformes fécaux

Ce groupe de bactéries est souvent utilisé dans les critères microbiologiques au lieu d'*E.coli* pour éviter d'avoir à procéder aux tests de confirmation long et coûteux qu'exige *E.coli*. Ces organismes sont sélectionnés en faisant incuber un inoculum fourni par un bouillon d'enrichissement des coliformes à plus haute température (44°C-45,5°C). Ainsi, le groupe de coliformes fécaux présente une plus grande probabilité de contenir des organismes d'origine fécale et, ainsi, d'indiquer la présence d'une contamination fécale. Il convient de signaler que le germe *E.coli* pathogène O157 : H7 ne se développe pas à 44°C sur tous les milieux sélectifs normalement utilisés pour le dénombrement de *E.coli*.

d) Staphylococcus aureus

Cet organisme figure dans un certain nombre de critères microbiologiques. La méthode la plus fiable consiste en un étalement sur le milieu de Baird-Parker au jaune d'œuf avec incubation pendant 30 heures à 37°C. Les cultures positives doivent être confirmées au moyen d'essai faisant appel à l'activité de la coagulase. Sa présence en grand nombre peut dénoter celle éventuelle d'entérotoxines et/ou de manquements à l'hygiène ou aux bonnes pratiques de fabrication.

e) Salmonelles

L'absence de salmonelles est un critère impératif. On pourra également si besoin est (épidémie ou risque imminent) rechercher les flores pathogènes sur les produits à risques, même si la recherche n'est pas réalisée en routine (exemple : *Vibrio cholerae* est recherché et identifié pour des produits importés).

D'une façon générale et même si les essais automatisés rapide sont de plus en plus nombreux à recevoir leur accréditation, les essais microbiologiques restent coûteux, long et fastidieux. Il en résulte que le nombre des échantillons que l'on peut examiner est limité. En outre, il convient de préciser une fois de plus qu'un test négatif pour un pathogène spécifique ne garantit pas que le lot soit exempt de ce même pathogène.

3- Critères microbiologiques

Les critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire certains poissons sont fixés par la directive 91/493/CEE. Ces critères microbiologiques ne doivent être pris en compte qu'en référence aux modalités de prélèvement et d'interprétation des résultats précisés dans cet arrêté et aux méthodes d'analyse de référence ou de routine validées à ce jour. Les tableaux 18,19 et 20 regroupent les critères microbiologiques imposés ou indiqués ainsi que les méthodes validées par les autorités compétentes.

Tableau 18 : Critères microbiologiques impératifs et indicatifs fixés pour le poisson tranché, panés ou non et les filets de poissons frais. Source I.T.S.V. (2001).

Germes	n	c	m	M	Standard
Salmonelles	5	0	Absence dans 25g m=M		Impératif
Coliformes 44°C	5	2	10	100	Indicatif
E.coli/g	5	1	10	100	
Staphylocoques coagulase + /g	5	2	100	1000	
Flore aérobie 30°C/g	5	2	1000	100000	

En Algérie les critères microbiologiques des poissons et des produits de pêche sont fixés par l'arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 Janvier 1998 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires (N° JORA : 035 du 27-05-1998) (Tableau19)

Tableau 19 : Critères microbiologiques des poissons:

PRODUITS	n	c	m
1. Poissons tranchés panés ou non et filets de poissons frais réfrigérés:			
- germes aérobies à 30°C	5	3	10^5
- coliformes fécaux	5	3	10
- <i>Staphylococcus aureus</i>	5	3	10^2
- <i>clostridium sulfito-réducteurs</i> à 46°C	5	3	10
- <i>Salmonella</i>	5	0	Absence
2. Poissons tranchés panés ou non, filets de poissons congelés ou surgelés:			
- germes aérobies à 30°C	5	3	5.10^4
- coliformes fécaux	5	3	10
- <i>Staphylococcus aureus</i>	5	3	10^2
- <i>clostridium sulfito-réducteurs</i> à 46°C	5	3	2
- <i>Salmonella</i>	5	0	absence
3. Poissons frais et congelés:			
- germes aérobies à 30°C	5	3	10^6
- coliformes fécaux	5	3	4
- <i>Staphylococcus aureus</i>	5	3	10^3
- <i>Salmonella</i>	5	0	absence

Tableau 20 : Liste des méthodes de référence ou de routine validées AFNOR pour l'évaluation réglementaire des critères microbiologiques dans les produits de la pêche. Source I.T.S.V. (2001).

Micro-organismes	Méthode de référence	Méthodes de routine
Micro-organismes aérobies à 30°C	NF ISO 4833	V 08-51 : Microbiologie alimentaire. Méthode de routine pour le dénombrement de micro-organismes. Méthode pour le comptage des colonies obtenues à 30°C.
Coliformes fécaux	NF V 08-017	NF V 08-060, Microbiologie des aliments. Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies obtenues à 44°C. Méthode de routine.
<i>Escherichia coli</i>		XP V 08-053, Microbiologie alimentaire. Méthode de routine pour le dénombrement des <i>Escherichia coli</i> b-glucuronidase positive par comptage des colonies à 44°C. Méthode de routine.
<i>Staphylococcus aureus</i>	NF V 08-014	NF V 08-057-2, Microbiologie alimentaire. Méthode de routine pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies à 37°C. Partie 2, Technique sans confirmation des colonies.
Anaérobies sulfito-réducteurs à 46°C	XP V 08-061	
<i>Salmonella</i>	NF ISO 6579	NF V 08-052, Microbiologie des aliments. Recherche de <i>Salmonella</i> . Méthode de routine.

4- Dénombrement des organismes spécifiques d'altération

La population bactérienne du poisson altéré ou microflore d'altération est composée d'un mélange de différentes espèces. Seules quelques-unes d'entre elles, les organismes spécifiques de l'altération, sont responsables de la production des odeurs désagréables à l'origine du rejet. Les SSO (spécifique spoilage organisms) représentent parfois une faible proportion de la microflore totale, les méthodes permettant leur détection doivent donc être sensibles et spécifiques.

Le dénombrement de bactéries productrices de sulfure d'hydrogène comme *Shewanella putrefaciens* est plus étroitement associé au rejet sensoriel du poisson (poisson

entier conservé sous glace) que la flore totale. Des études utilisant le dénombrement des SSO pour l'appréciation de l'état de fraîcheur et la détermination de la durée de vie restante du produit ont donné des résultats très encourageant (Dalgaard P.1997).

Le facteur limitant des essais microbiologiques est le temps nécessaire aux analyses. L'intérêt de ces examens est limité pour un produit aussi périssable que le poisson frais. Ces méthodes classiques ne sont utilisées qu'à l'occasion de procédures d'auto-contrôle. Le développement de nouvelle méthode rapide comme les méthodes conductimétriques, la cytométrie de flux et les méthodes immunologiques permettront peut être de diminuer la durée nécessaire à l'obtention des résultats.

D. Evaluation de la fraîcheur du poisson par les techniques de mesures physiques

Lors de l'entreposage du poisson, les changements biochimiques sont responsables de modification physiques de la chair du poisson. Certaines de ces modifications peuvent être exploitées pour évaluer la fraîcheur du poisson. Les changements de texture, de propriétés électriques et de la couleur ont été étudiés en fonction du nombre de jour d'entreposage sous glace et ont permis de mettre en évidence, dans certaines conditions, une corrélation entre ces mesures et le degré de fraîcheur des produits.

1- Méthodes mécaniques et évaluation de la texture

Des méthodes mécaniques sont utilisées pour mesurer les modifications structurales. Ces méthodes permettent le plus souvent la mesure de la déformation engendrée par une pression donnée. Les instruments utilisés sont des texturomètres qui ont un fonctionnement variable selon le type d'analyse. La confrontation des résultats avec les méthodes sensorielles est plus ou moins satisfaisante selon les auteurs. La méthode de mesure et d'échantillonnage, ainsi que l'espèce, le stade physiologique et le mode de capture ont une influence considérable sur la capacité de ces méthodes à évaluer la fraîcheur du poisson. L'absence de méthode universelle pour évaluer les propriétés mécaniques rend leur utilisation impossible en routine.

2. Mesure de la fraîcheur basée sur les propriétés électriques

Lors de l'altération autolytique post-mortem du muscle de poisson, les membranes des cellules qui le composent se désorganisent progressivement. Le liquide intracellulaire fuit vers les espaces intercellulaires. Des électrolytes accompagnent cette fuite. La résistance électrique (R) et la capacitance (C) des tissus diminuent. La mesure de C et R donne une bonne corrélation avec l'analyse sensorielle (Jason et Richards, 1975). Trois instruments sont utilisés pour mesurer les modifications des propriétés électriques : le Torrymeter, l'Inlectron Fichtester et le RT-Freshness Grader. Ces trois appareils sont utilisés pour déterminer le nombre de jour de conservation sous glace et la durée de vie restante pour les différentes espèces de poissons entiers ou en filets.

Les avantages de ces testeurs sont la rapidité de réponse et la possibilité d'être utilisés par un personnel non entraîné. De plus les testeurs sont les seuls à donner une mesure utilisable comme indicateur de fraîcheur ou d'altération ayant une évolution pratiquement linéaire avec le nombre de jour d'entreposage sous glace. Malheureusement la mesure initiale obtenue grâce aux testeurs est variable d'une espèce à l'autre. Au sein d'une même espèce on note également des variations en fonction de la teneur en eau, en graisse et selon l'âge du poisson. Les testeurs ne peuvent pas être utilisés pour le poisson conservé dans la glace obtenue à partir d'eau de mer et le poisson congelé (mais permet de contrôler si le poisson est frais ou décongelé). Les compressions mécaniques des tissus lors de la capture ou des manipulations peuvent perturber également l'interprétation des résultats (degré d'altération supérieur à la réalité). Pour les filets les testeurs ne sont intéressants que pendant les premiers jours d'entreposage sous glace. (Oehlenschläger J. et Nesbø P, 1997).

Malgré ces désavantages, les testeurs sont des instruments facilement utilisables, rapides et apportant une bonne indication de l'état de fraîcheur du poisson. Leur utilisation est cependant encore restreinte dans l'industrie.

Des méthodes physiques utilisant les changements de couleur de la chair sont actuellement à l'étude, mais le lien entre les changements de couleur et la durée d'entreposage n'est pas encore établi. Des changements de couleurs sont observés durant l'entreposage et peuvent être provoqués par des réactions chimiques, par la température ou la rigidité cadavérique. Ces méthodes ne peuvent donc pas être appliquées à l'industrie actuellement (Schubring et Oeglenschlager, 1996).

L'utilisation de la spectroscopie proche infrarouge s'est avérée prometteuse pour évaluer certains aspects de la qualité du poisson. Des mesures de transmission dans la gamme de longueur d'onde de 860 à 920 nm ont été réalisées sur des échantillons de muscle de cabillaud et une corrélation entre l'atténuation de la lumière et le temps d'entreposage sous glace des filets de cabillaud a été trouvée. Cette méthode non destructive est encore en cours d'expérimentation et n'est pas utilisable en routine actuellement (Signeres, 1997)

E. Recherche de toxiques et de biotoxines marines

Certaines substances toxiques comme les métaux lourds ou les biotoxines marines représentent un risque pour la santé publique. Dans la plupart des pays, la surveillance du milieu aquatique pour y déceler les pollutions et la présence de toxines et de biotoxines chimiques dans les poissons ou dans les algues incombe aux pouvoirs publics, et est confiée de préférence à des laboratoires spécialisés. Des limites critiques applicables aux biotoxines et à la pollution figurent dans les législations nationales ou les recommandations internationales. Le tableau 21 ci-contre regroupe des exemples de concentrations maximales de résidus de contaminants chimiques dans les poissons de consommation.

Tableau 21: Exemples de concentrations maximales de contaminants chimiques dans les poissons de consommation. DDT : Dichloro-Diphényl-Trichlorethane, DDD : Dichloro-Diphényl-Dichlorethane, PCB. Source : (CEVPM, 2006).

Substance chimique	Limite maximale de résidu (mg/kg)	Pays
DDT + DDD + dérivés	2	Danemark
Dieldrine	0,1	Suède
PCB	2	Suède
Plomb	2	Danemark
Mercure	0,5	CEE

1. Exemple du Mercure

Le mercure n'est pas un indicateur de la fraîcheur du poisson. Ce métal lourd est cependant recherché dans la mesure où il a la capacité de s'accumuler tout ou long de la chaîne alimentaire marine et où il peut provoquer de graves incidents de santé publique dans les populations qui consomment régulièrement des poissons contaminés (accident de Minamata au Japon). L'analyse est pratiquée sur un mélange finement homogénéisé d'échantillons représentatifs du lot et prélevés par les professionnels (autocontrôles) ou par le

service d'inspection (plan de surveillance de poissons provenant de zones suspectes). Le nombre d'échantillons prélevé ainsi que la teneur moyenne maximale tolérable sont fixés par la décision du 19 Mai 1993 ; ils sont repris dans le tableau 22.

Ces valeurs, ainsi que les valeurs pour le cadmium et le plomb sont actuellement en cours de révision au niveau communautaire.

Tableau 22: Teneur moyenne maximale en Hg tolérable et nombre minimal d'échantillon par lot fixée par la décision de la commission n° 93/351/CEE du 19 Mai 1993.

Espèces concernées	Teneur moyenne maximal tolérable d'Hg (ppm de poids frais)	Nombre minimal d'échantillon par lot
<u>Espèces prédatrices :</u> - Anguilles (<i>Anguilla spp.</i>) - Bar (<i>Dicentrarchus labrax</i>) - Bauoies (<i>Lophius spp.</i>) - Bonites (<i>Sarda spp.</i>) - Brochet (<i>Esox licius</i>) - Espadon (<i>Xiphias gladius</i>) - Esturheons (<i>Acipenser spp.</i>) - Flétan (<i>Hippoglossus hippoglossus</i>) - Lingue bleue (<i>Molva disterygia</i>) - Loup (<i>Anarhichas lupus</i>) - Marlins (<i>Makaira spp.</i>) - Niger ptinceps (<i>Centroscymnes coelopsis</i>) - Palométe (<i>Orcynopsis unicolor</i>) - Raies (<i>Raja spp.</i>) - Repuins (Toutes espèces) - Sabres (<i>Leopidopus caudatus</i>, <i>Aphanopus carbo</i>) - Sébastes (<i>Sebastes marinus</i>, <i>S. mentella</i>) - Thons (<i>Thunnus spp.</i>) - Thonines (<i>Euthynnus spp.</i>) - Voilier (<i>Istiophorus plateyrus</i>)	1	10 échantillons à prélever sur 10 individus différents
<u>Autre espèces</u>	0,5	5 échantillons à prélever sur 5 individus différents

2. Biotoxines marines

Dans certaines circonstances écologique, des poissons, surtout des eaux tropicales, peuvent devenir vénéneux par concentration dans leurs tissus musculaires ou dans leurs organes de substance appelées ichtyotoxines, dangereuses pour le consommateur : tétródotoxine et ciguatera notamment. (Tableau 23)

Ces substances ne sont pas détruites par les traitements technologiques (cuisson, fumage, séchage, salage) et il n'existe pas de technique de routine en laboratoire pour leur mise en évidence.

C'est pourquoi la mise sur le marché des espèces de poissons les plus fréquemment toxiques est interdite (famille des molidés et des canthigastéridés). Seule l'identification de ces espèces permet de les écarter de la consommation.

Les autres phycotoxines comme l'acide domoïque, la saxitoxine, etc...concernent essentiellement les fruits de mer.

Tableau 23 : Biotoxines marines chez les poissons (source : ITSV, 2001)

Toxine	Symptôme	Lieu de synthèse	Animaux concernés
Ciguatoxine	Troubles gastro-intestinaux Troubles neurologiques Troubles cardiaques	Algues marines	400 espèces de poissons tropicaux
Toxines :			
Paralytique (PSP)	Picotement autour des lèvres (visage, cou). Picotement des membres. Incoordination, faiblesse.	Algues marines	Coquillages
Diarrhéique(DSP)	Nausée, vomissement, perte mémoires à court terme.		
Amnésique (ASP)	Diarrhées, crampes abdominales, céphalées, vertiges.		

V. Le poisson et les risques pour la santé publique

Les produits de la pêche présentent des risques spécifiques pour la santé publique. Ils peuvent être à l'origine de toxi-infections alimentaires ou de maladies d'origines alimentaires chez l'homme. Les dangers liés aux poissons concernent la présence, le développement ou la survie dans les produits d'agents biologiques (nématodes de la famille des Anisakidés parasites des poissons, bactéries pathogènes, virus), biochimiques (biotoxines, histamines), chimiques (résidus médicamenteux, mercure) ou physique, susceptibles d'entraîner un effet néfaste sur la santé des consommateurs.

L'apparition de ces dangers peut résulter :

- De la contamination des produits par des agents biologiques environnementaux naturellement présent dans la zone de collecte des produits : *Anisakis*, bactéries potentiellement pathogène type *vibrio parahaemolyticus*, phytotoxines, etc.
- De la contamination primaire in situ des produits provenant d'une pollution des zones de pêches d'origine humaine. Il s'agit de virus (hépatite A ou virus de Norwalk), de bactéries (*listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* de type E, etc.) ou de contaminants chimiques (métaux lourds, hydrocarbures, etc.).
- De la contamination des produits par des bactéries pathogènes (*Salmonelles*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* 01, 0139, *Listeria monocytogenes*) ou des contaminants chimiques (hydrocarbures) lors de manipulations non hygiéniques des produits.
- De l'altération intrinsèque du produit (histamine, amines biogènes de dégradation).

Le tableau 24 regroupe les dangers spécifiques liés à la consommation de poisson frais.

Tableau 24 : Analyse des risques que comporte le poisson frais utilisé comme matière première d'après Huss, 1994

Organisme/composant Susceptible d'être incriminé	Danger			
	Contamination	Prolifération	Gravité	Risque
Bactéries pathogènes :				
- Indigènes	–	+	élevée/faible	pas de risque ¹
- Non indigènes	+	+	élevée	faible
Virus	+	–	–	pas de risque ¹
Biotoxines	+	–	élevée	élevé
Amines biogéniques	–	+	faible	élevé
Parasites	+	–	faible	pas de risque ²
Produits chimiques	+	–	faible	faible
Bactéries d'altération	+	+	faible	élevé

¹ Pas de risque si le produit est cuit

² Pas de risque si le produit est cuit ou congelé

L'étude des phénomènes d'altération responsable des modifications post-mortem du poisson a permis la mise au point de nombreuses techniques d'évaluation de l'état de fraîcheur. Ces outils ont par là même contribué à dégager des critères concrets permettant de mieux définir la notion de fraîcheur. Ce concept, difficilement appréciable du fait de sa constante évolution, peut aujourd'hui être approché par le biais de la concentration en ABVT, par la valeur du facteur K, par la mesure de la capacitance, par l'appréciation des caractères organoleptiques....

Même si aucune de ces méthodes ne peut s'appliquer à toutes les espèces et à tous les types de production, les industriels disposent d'une gamme de techniques différentes plus ou moins bien adaptées à leurs activités spécifiques.

Cependant, malgré la bonne corrélation entre la fraîcheur et la qualité globale du produit, d'autres types d'analyses doivent être réalisées afin d'assurer la sécurité des consommateurs. La plupart de ces examens comme la recherche de métaux lourds ou d'organismes pathogènes

sont fastidieux et coûteux. Ils ne peuvent donc pas être menés pour un grand nombre d'échantillons et leur utilisation sur les produits finaux ne peut garantir un niveau suffisant de sécurité.

Cette carence souligne les limites d'un plan d'assurance qualité fondé uniquement sur l'analyse des produits terminaux.

PARTIE EXPERIMENTALE

Objectifs :

La sardine (*Sardina pilchardus*) a occupée la première place parmi les poissons pélagiques débarqués entre 2000-2005 d'après les statistiques des pêches de juillet 2006 (M.P.R.H., 2006)

Le renforcement des exigences en matière de normes sanitaires au niveau des marchés internationaux, dont celui de notre principal partenaire commercial qui est l'Union Européenne, a conduit le Ministère de la Pêche et des Ressources Halieutiques à mettre en conformité son dispositif de contrôle sanitaire des produits de la pêche pour renforcer les conditions d'hygiène et préserver ainsi la santé humaine et permettre l'accroissement des exportations, hors hydrocarbures.

C'est dans ce sens que le présent travail se propose :

- De contribuer à l'étude de la conservabilité de la sardine fraîche « *Sardina pilchardus* » par l'évaluation des paramètres sensoriels et chimique (teneur en ABVT, TMA) selon 4 modes de conservations :
 - Température ambiante : 16 – 19°C (Hiver) et 32 – 35°C (Eté)
 - Réfrigéré : 2°C
 - Sous glace : 0 – 5°C
- De déterminer la durée de conservation dans ces 3 conditions et dégager les critères organoleptiques et chimiques (teneur en ABVT, TMA) qui présentent un potentiel exploitable au niveau des points de vente (pêcheries, établissement de pêche) afin de fixer des normes appropriées pour l'appréciation et le contrôle de la qualité de la sardine algérienne (Autocontrôle et contrôle officiel par les services vétérinaires).
- D'étudier les corrélations qui existent entre l'évolution de la qualité organoleptique et la teneur en ABVT, TMA.
- De faire des recommandations sur les conditions de conservation, de stockage, de transport, de l'hygiène et de la salubrité de la sardine.

I. Matériel et méthodes

L'étude est menée sur la sardine « *Sardina pilchardus* » capturée au niveau de la zone de pêche comprise entre Zemmouri et Boumerdes, villes situées à l'Est d'Alger (45Km, environ), et débarquée au port de pêche de Zemmouri.

La sardine commune, *Sardina pilchardus* fait partie de l'ordre des clupéiformes, comme l'allache, le hareng et l'anchois. Elle se reproduit quasiment toute l'année.

Position systématique de la sardine commune (PDM, 2008):

Embranchement :	Vertébrés
Super classe :	Poissons
Classe :	Ostéichthyens
Sous classe :	Actinoptérygiens
Super ordre :	Téléostéens
Ordre :	Clupéiformes
Famille :	Clupéidés
Genre :	Sardinella
Espèce :	<i>Sardina pilchardus</i>

L'étude est réalisée au niveau du laboratoire central de l'intendance de l'armée nationale populaire (ANP) situé à El Harrach (Alger), pendant la période allant de juillet (2008) à janvier (2009), elle a concerné 08 lots représentant 124 échantillons au total.

Un lot est représenté par 2 à 3 caisses de sardine (quantité variable 45 à 60 Kg) pêché dans une même période, même date et même conditions de pêche et entreposé sous un mode de conservation identique (T° ambiante, réfrigérée ou sous glace).

Un échantillon est représenté par une vingtaine de pièce de sardine prélevé d'un même lot.

Les périodes et les conditions de pêche de cette espèce figurent sur le tableau 25.

1. Préparation des échantillons :

Les poissons (sardines) utilisés dans cette étude sont débarqués au niveau du port de pêche de Zemmouri par un navire de pêche de type sardinier. (Figure 7).

Après débarquement, et récupération des poissons, une quantité variable selon les lots (45 à 60 kg) est mise dans des très grandes glacières portatives préalablement désinfectées (lots réfrigérés et sous glace).

La sardine est placée dans la glacière en prenant soin d'alterner une couche de poisson et une couche de glace.

Une période allant de 2 à 9 heures s'écoule entre le moment de capture, et le moment d'arrivée au laboratoire central de l'intendance de l'ANP.



Figure 7 : Navire de pêche de type sardinier : port de pêche de Zemmouri
Photo personnelle

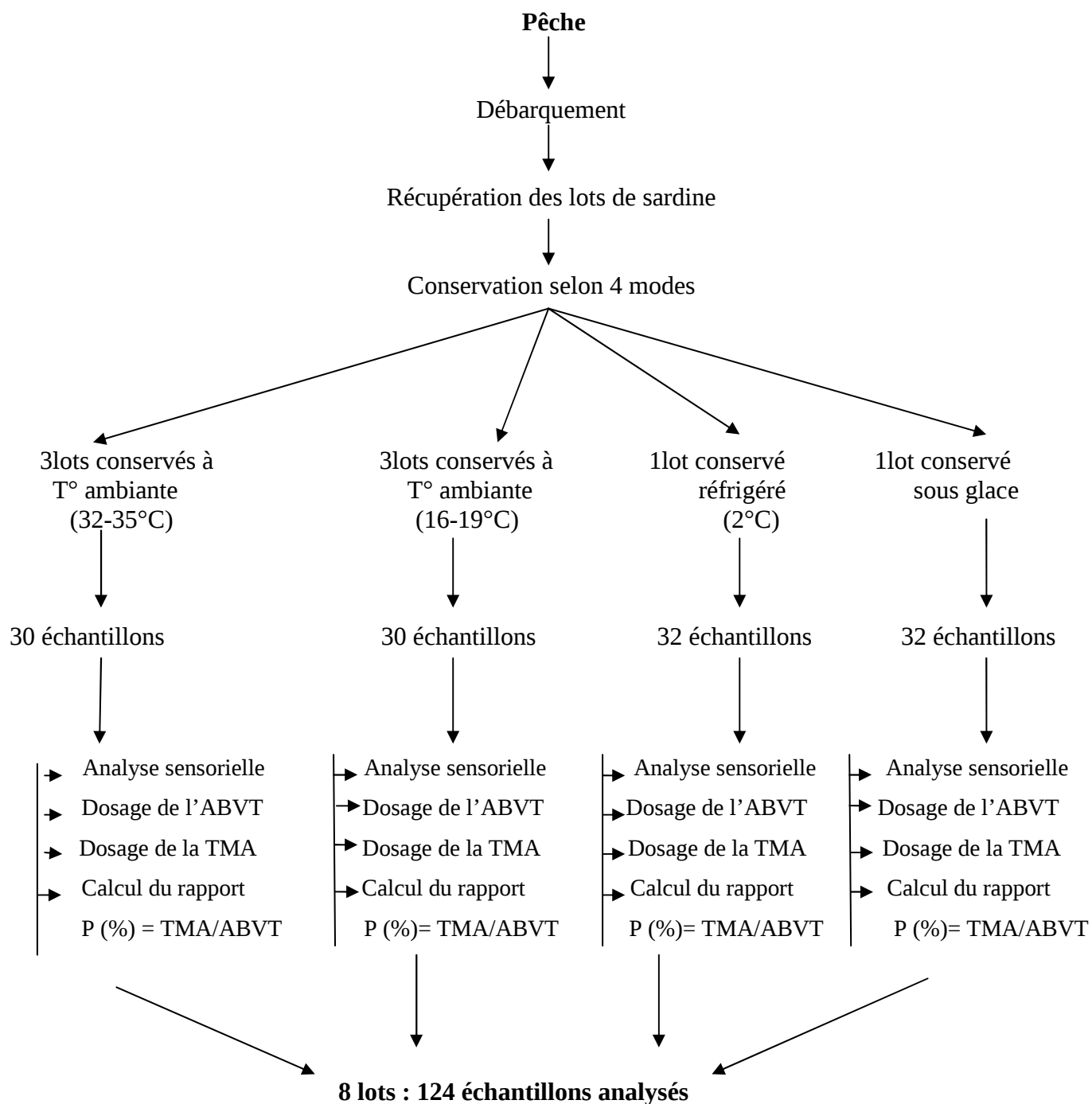
Tableau 25 : Conditions de pêche de la sardine.

N° du Lot	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5	Lot 6	Lot 7	Lot 8
Conditions de pêche								
Date de pêche	Juillet 2008	Juillet 2008	Juillet 2008	Aout 2008	Aout 2008	Décembre 2008	Janvier 2009	Janvier 2009
Zone de pêche	Zemmouri Boumerdes	Zemmouri Boumerdes	Zemmouri Boumerdes	Zemmouri Boumerdes	Zemmouri Boumerdes	Zemmouri Boumerdes	Zemmouri Boumerdes	Zemmouri Boumerdes
Heure de pêche	23h – 6h	23h – 6h	23h – 6h	23h – 6h	23h – 5h	17h – 00h	17h – 00h	17h – 00h
Technique de pêche	ST	ST	ST	ST	ST	ST	ST	ST
Taille de la sardine	C	C	C	C	C	C	C	C
Mode de conservation	T° ambiante 32-35°C	T° ambiante 32-35°C	Réfrigéré 2°C	T° Ambiante 32-35°C	Sous glace	T° Ambiante 16-19°C	T° ambiante 16-19°C	T° ambiante 16-19°C

ST : Senne tournante.

C : Commerciale (>12cm).

T° : Température.

**Figure 8 : Protocole expérimental**

- **Au laboratoire :**

Les premières analyses sont effectuées immédiatement à l'arrivée au laboratoire, le reste du poisson est mis dans des caisses en polystyrène perforées et conservé de la manière suivante :

Pour le lot réfrigéré : les caisses sont placées dans un grand réfrigérateur à température contrôlée (2°).

Pour le lot conservé sous glace : une couche de sardine est alternée avec une couche de glace dans une caisse en polystyrène (le rapport glace/poisson n'a pas été pris en considération). L'eau de fusion de glace est drainée par les perforations des caisses. Elle est remplacée au fur et à mesure du stockage par une autre glace, afin de maintenir les mêmes conditions durant toute la période d'expérimentation.

Les prélèvements s'effectuent aux jours J₁, J₂, J₃, J₄, J₅, J₈, J₉, J₁₀. (Jours de conservation).

Chaque jour 4 échantillons sont analysés, ce qui fait que 32 échantillons sont analysés durant toute la période de stockage à l'état réfrigéré, et le même nombre d'échantillons sont analysés à l'état sous glace

- Pour le lot entreposé à température ambiante en deux périodes : Eté (32-35°C) et Hiver (16-19°C) ont été entreposés dans des caisses en polystyrène.

Les prélèvements sont effectués à H₀, H₂, H₄, H₆, H₂₄. (Heures de conservation).

Chaque heure 2 échantillons d'un même lot sont analysés.

Le nombre total des échantillons analysés à l'état température ambiante est de 60 échantillons : 30 échantillons à des températures entre 16 – 19°C et 30 échantillons à des températures entre 32 et 35°C.

Le nombre total des échantillons analysés dans les 4 modes de conservation est de 124.

La répartition du nombre d'échantillons analysés par lot et par mode de conservation est représentée dans le tableau 26.

Tableau 26 : Répartition du nombre d'échantillons analysés par lot et par mode de conservation

N° du lot	Mode de conservation	Nombre d'échantillons analysés
Lot 1	T° ambiante (32-35°C)	10
Lot 2	T° ambiante (32-35°C)	10
Lot 3	Réfrigéré (2°C)	32
Lot 4	T° ambiante (32-35°C)	10
Lot 5	Sous glace	32
Lot 6	T° ambiante (16-19°C)	10
Lot 7	T° ambiante (16-19°C)	10
Lot 8	T° ambiante (16-19°C)	10

2. Méthodes d'analyses effectuées :

Chaque prélèvement (1 échantillon) consiste en une vingtaine de sardines à taille commerciale et fait l'objet des deux types d'analyses :

A. Examen sensoriel :

L'examen sensoriel utilisé dans le présent travail est basé sur la description de différents caractères retenus par le règlement du conseil N° 103/76/CEE et par la méthode de la communauté économique européenne (CEE n°2406/96)

Les caractères retenus sont les suivants :

- Peau : mucus, pigmentation, degré d'adhérence des écailles, éclat.
- Œil : teinte de la pupille, aspect de la cornée, affaissement de l'œil.
- Branchies : teinte, odeur, mucus.
- Rigidité : fermeté de la chair, fermeté de la paroi abdominale.
- Péritoine : adhérence à la paroi interne.
- Colonne vertébrale : couleur de la chair avoisinante, degré d'adhérence à la chair.
- Opercule : aspect.

Le jury d'évaluation, ayant examiné nos échantillons est composé de 3 membres dont deux sont des vétérinaires et 1 est une biologiste.

L'utilisation d'une fiche de résultats d'analyse organoleptiques nous a facilité le travail (annexe 1).

Cette appréciation organoleptique est effectuée afin de déterminer le temps de rejet organoleptique qui correspond au moment où la sardine n'est plus consommable et de mettre en évidence les modifications organoleptiques spécifiques à prendre en compte pour l'appréciation de l'altération de la sardine.

L'évaluation de chaque caractère nous a permis également, en lui attribuant une note de 0 à 3, de définir le degré de fraîcheur qui représente la moyenne arithmétique des notes obtenues pour chaque caractère. Selon ce barème de cotation, des notes égales ou supérieures à 2,7 sont attribuées au poisson ne représentant pas de signes d'altération, tandis que le poisson qui commence à présenter des signes d'altération est coté d'une note égale ou supérieure à 2 et inférieure à 2,7. La note égale ou supérieure à 1,0 et inférieure à 2,0 correspond au seuil d'acceptabilité du poisson pour la consommation humaine. Enfin, le poisson coté d'une note inférieure à 1,0 doit être retiré de la consommation humaine (CEE n°2406/96). (annexe 2)

B. Analyses chimiques :

1. Dosage de l'ABVT et de la TMA :

a. Matériels :

Substances chimiques :

- Solution d'acide trichloracétique à 7,5%
- Solution d'hydroxyde de sodium à 10%
- Solution d'acide borique à 4%
- Solution d'acide sulfurique 0,1N
- Indicateur mixte constitué de rouge de méthyle et de vert de bromocrésol.
- Formol (solution à 37%).

Equipements :

- Caisses en polystyrène perforées.
- Enceintes isotherme (glacières).
- Balance de précision à plateau.
- Hachoir type blender donnant un hachis de poisson suffisamment homogène.
- Centrifugeuse.
- Pipettes de centrifugation 500 ml.
- Entonnoir.
- Micro burette 10 ml.
- Burette automatique.

- Becher gradué de 50 ml.
- Pipettes 5 ml, 10 ml, 25ml.
- Flacons d'ermeneyer de 300ml.
- Matériel de dissection.
- Agitateurs
- Filtre plissé de 150 mm de diamètre à filtrage rapide.
- Distillateur (Appareil de Kjeldhal), figure 9
- Eau distillée.
- Verrerie de laboratoire.



Figure 9: Appareil de Kjeldhal (LCI, 2009) Photo personnelle

b. Dosage de l'ABVT par la méthode d'entraînement à la vapeur

Le dosage de l'ABVT a été réalisé selon la méthode de distillation d'un extrait déprotéinisé par l'acide trichloracétique préconisé par la commission de l'Union Européenne (Directive UE 91/493).

Les analyses doivent être effectuées en double. La méthode appliquée est correcte si la différence entre les deux analyses ne dépasse pas 2mgN/100g

Il faut effectuer un essai à blanc en utilisant 25ml d'acide trichloracétique à la place de l'extrait.

Pour obtenir un extrait de poisson exempt de protéines, on pèse 100g de muscle de poisson auquel on ajoute 200 ml de solution aqueuse d'acide trichloracétique à 7,5 %. Après homogénéisation et centrifugation à 2000 tours/minute pendant 5 minutes, on filtre sur Bucher avec filtre Whatman n°3, ou sur filtre n°2 sans Buchner.

L'entraînement à la vapeur est réalisé avec un appareil de distillation de type Kjeldahl. On introduit 25 ml de filtrat dans le tube de distillation puis 6 ml d'hydroxyde de sodium à 10%. On place sous l'extrémité du condenseur un bécher dans lequel ont été versés 10 ml de solution aqueuse d'acide borique à 4% contenant 0,04 ml d'un indicateur mixte pour le titrage de l'ammoniac, constitué de rouge de méthyle et de vert de bromocrésol. On met en route la distillation et on prolonge l'entraînement à la vapeur jusqu'à ce que le bécher contienne exactement un volume final de 50 ml (40 ml de distillat). L'appareil sera rincé avant l'utilisation suivante.

La solution d'acide borique étant devenue verte sous l'effet de l'alcalinisation produite par l'ABVT recueilli, on place le bécher sous une microburette graduée à 0,01 ml (ou une burette automatique) contenant une solution aqueuse d'acide sulfurique 0,1 N, et on titre jusqu'à complète décoloration (la chute de burette doit être lue précisément à ce stade, l'addition ultérieure d'une goutte d'acide sulfurique entraînera alors l'apparition d'une légère coloration rose).

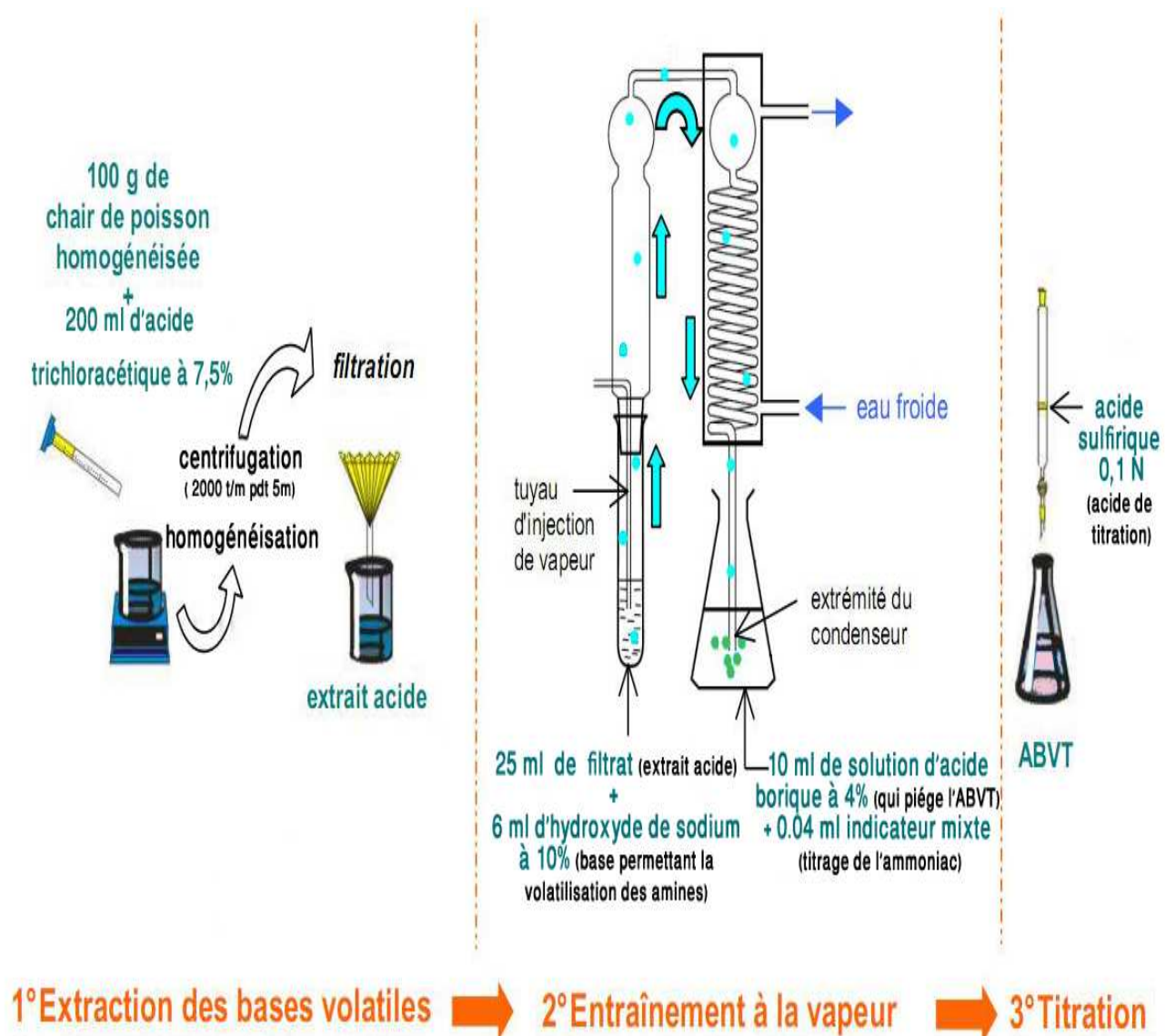


Figure 10 : Etapes de dosage de l'ABVT par la méthode d'entraînement à la vapeur (Directive UE 91/493).

c. Dosage de la TMA par la méthode d'entraînement à la vapeur :

La méthode de dosage de la TMA est assez proche de celle décrite pour le dosage de l'ABVT.

Cependant il existe une étape supplémentaire entre la déprotéinisation de l'échantillon et sa distillation : avant la distillation, on ajoute au filtrat 20 ml de formol (solution à 37% minimum) pour bloquer les amines primaires et secondaires (Malle et TAO, 1987).

Les mesures de l'ABVT et de la TMA sont couramment utilisées dans l'industrie à l'arrivée des matières premières. Elles permettent d'évaluer approximativement la qualité. Ces dosages sont également pratiqués lors de l'inspection si à l'issue de l'examen organoleptique des doutes persistent sur l'état d'altération des produits.

Le règlement (CE) n° 854/2004 (qui fixe les règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale) prévoit des dosages d'ABVT et de TMA pour les produits de la pêche non transformés. Des valeurs limites ont été définies dans le règlement (CE) n° 2074/2005 (annexe 3).

En général pour les poissons téléostéens :

- La teneur en ABVT indique que la qualité est satisfaisante en dessous de 20 mg N/100g, elle est acceptable entre 20 et 25 mg N/100g, au-delà le produit est en voie d'altération.
- Pour la TMA, généralement la qualité est satisfaisante en dessous de 3mgN/100g, elle est moyenne entre 3 et 5 mg N/100g, au-delà le produit est en voie d'altération.
- **Le rapport TMA/ABVT** exprimé en pourcentage que l'on appelle facteur P peut être utilisé pour faciliter l'interprétation des résultats. En effet il donne des éléments sur la composition de l'ABVT. D'autre part, puisque c'est un rapport, il subit de façon plus atténuée l'incidence des facteurs affectant à la fois les teneurs en TMA et ABVT, qu'il s'agisse de l'espèce ou du taux de graisse. Généralement la qualité est satisfaisante en dessous de 17%, elle est moyenne entre 17 et 40%, au-delà le produit est en voie d'altération.

2. Expression des résultats :

Le résultat s'exprime en mg d'azote pour 100 de chair de la sardine applicable aussi bien pour l'ABVT et que pour la TMA, à une décimale près.

Formule de calcul :

$$\begin{aligned}
 \frac{\text{ABVT}}{\text{TMA}} &= \frac{(V_1 - V_0) \times (m + V_{\text{ATCA}}) \times (M_N \times C_{\text{H}_2\text{SO}_4})}{V_i} \\
 &= \frac{(V_1 - V_0) \times (100 + 200) \times (14 \times 0,1)}{25} \\
 &= (V_1 - V_0) \times 16,8 \text{ (mg d'azote/ 100g de produit)}
 \end{aligned}$$

Soit :

V_1 = Volume d'acide sulfurique 0,1 N versé afin de neutraliser le distillat recueilli après distillation (ml).

V_0 = Volume d'acide sulfurique utilisé pour neutraliser le distillat « blanc » (ml).

M_N = Masse moléculaire de l'azote = 14 g/ mol.

$C_{\text{H}_2\text{SO}_4}$ = Concentration de l'acide sulfurique = 0,1 N.

V_i = Volume de la prise d'essai du filtrat (ml).

m = masse de l'échantillon (g).

V_{ATCA} = Volume d'acide trichloracétique ajouté à l'échantillon.

C. Analyse statistique

Toutes les données ont été saisies dans une base informatique classique (Excel 2003). La vérification et le traitement statistique des données sont effectués sur cette base et Free statistics with microsoft Excel ©Herve DELBOY, June 2006. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne $\pm$ l'écart type.

L'analyse descriptive a porté sur les paramètres de qualité organoleptiques et chimiques de la Sardine (*Sardina pilchardus*) suivants : Note organoleptique (indice de fraîcheur), ABVT et TMA pour les Modes de conservation suivants :

- T° ambiante (16 – 19°C),
- T° ambiante (32 – 35°C),
- Réfrigéré (2°C)
- Sous glace.

Nous avons utilisé le test T de Student Fisher le test non paramétrique Mann-Whitney-Wilcoxon pour comparer les moyennes observées de chaque paramètre pour les différents modes de conservations au seuil de signification $p < 0.05$.

Les représentations graphiques ont pour but d'apprécier l'évolution des paramètres étudiées.

L'étude d'existence de corrélation entre les différents paramètres nous permet d'expliquer la qualité de la relation entre ces derniers (dépendance ou non).

II. Résultats

A. Sardine conservée à température ambiante entre 16 – 19°C :

1. Evolution des paramètres organoleptiques et chimiques (teneur en ABVT, TMA) :

Les résultats de l'évolution de l'appréciation organoleptique et la teneur en ABVT, TMA de la sardine conservée à température ambiante (16 – 19°C) sont rapportés dans le tableau n° 27, et représentés par la figure n°11.

Tableau 27 : Evolution des paramètres organoleptiques et la teneur en ABVT, TMA
de la sardine conservée à température ambiante (16 – 19°C) Moyenne $\pm$ Ecart-type

Heures de stockage Paramètres de qualité	H0	H2	H4	H6	H24
Note organoleptique	2,87 $\pm$ 0,05	2,675 $\pm$ 0,13	2,05 $\pm$ 0,19	0,92 $\pm$ 0,31	0,28 $\pm$ 0,06
ABVT (mg N/100g)	11,98 $\pm$ 0,35	14,29 $\pm$ 0,93	19,34 $\pm$ 0,67	23,87 $\pm$ 0,52	32,92 $\pm$ 0,4
TMA (mg N/100g)	0,39 $\pm$ 0,16	0,64 $\pm$ 0,24	1,79 $\pm$ 0,4	3,02 $\pm$ 0,35	12,87 $\pm$ 0,78
P = TMA/ABVT (%)	3 $\pm$ 1	4 $\pm$ 2	9 $\pm$ 2	12 $\pm$ 1	39 $\pm$ 3

H6= Temps de rejet organoleptique

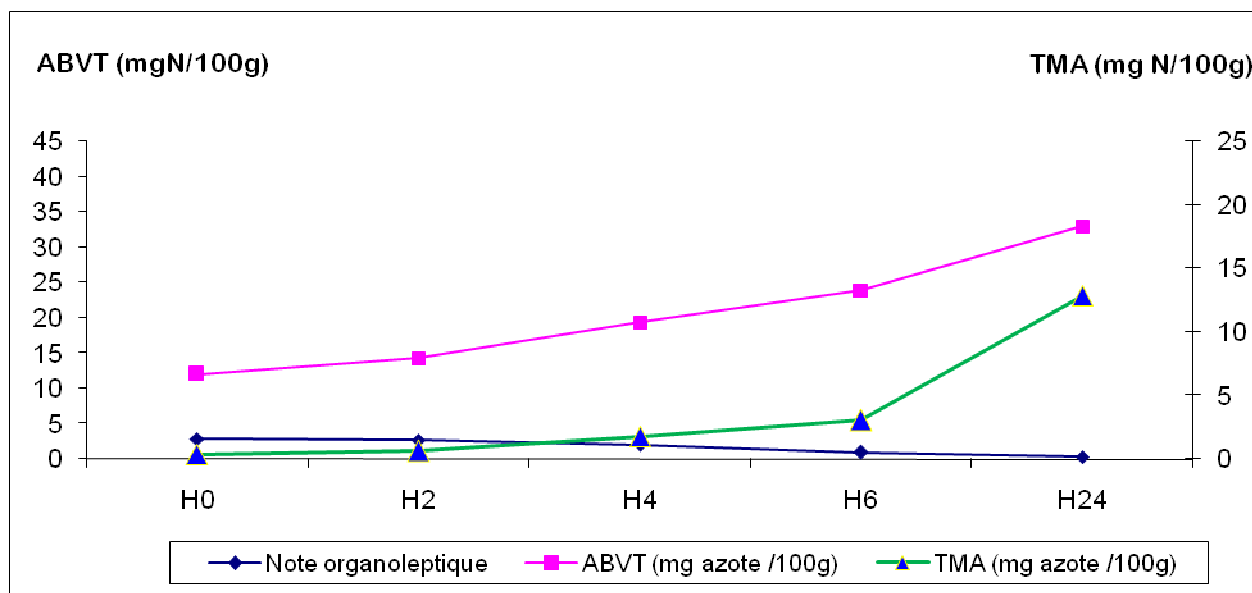


Figure 11 : Evolution des paramètres organoleptiques et chimiques (teneur en ABVT, TMA)
de la sardine conservée à T° ambiante (16 – 19°C)

Le suivi de l'évolution des caractères organoleptiques et chimiques de la sardine conservée à température ambiante située entre 16 – 19°C a permis de relever qu'au stade initial de stockage (H0) le degré de fraîcheur est de $2,87 \pm 0,05$ ce qui correspond à une catégorie de fraîcheur de la classe Extra. La teneur en ABVT est de $11,98 \pm 0,35$ mg N/100g qui correspond à un état de fraîcheur satisfaisant. La teneur en TMA est de $0,39 \pm 0,16$ mg N/100g.

Au stade de rejet organoleptique (H6), le degré de fraîcheur est de $0,92 \pm 0,31$ (Non admis). Les teneurs moyennes de l'ABVT et de la TMA obtenues sont respectivement $23,87 \pm 0,52$ mg N/100g et $3,02 \pm 0,35$ mg N/100g.

2. Corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en ABVT, TMA :

La corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en ABVT, TMA chez la sardine conservée à T° ambiante entre 16 et 19°C est représentée respectivement par les figures 12 et 13

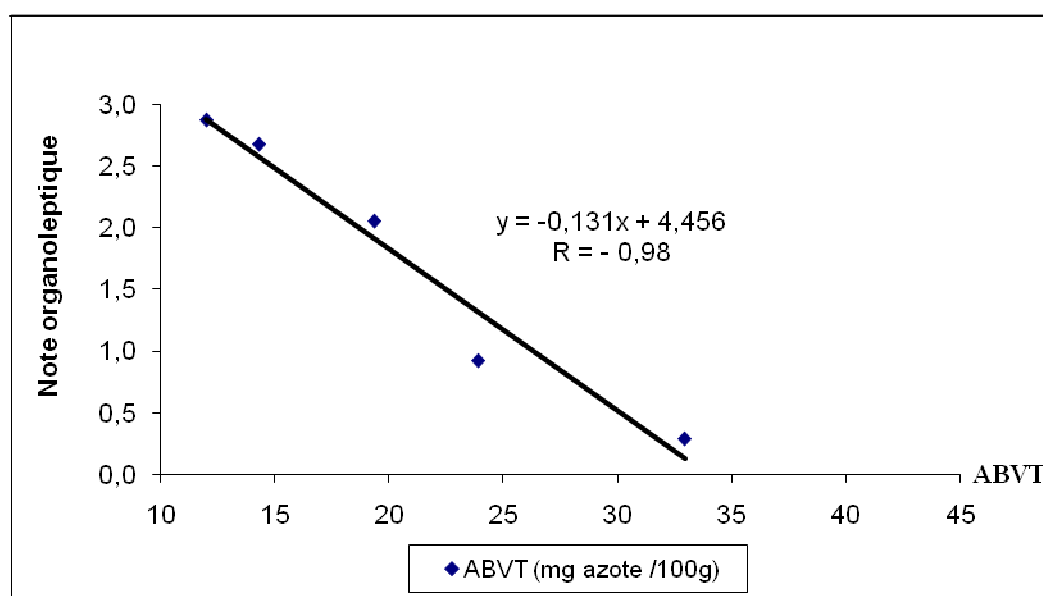


Figure 12 : Corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en ABVT chez la sardine conservée à T° ambiante : 16 – 19°C

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une forte corrélation linéaire négative entre l'évolution organoleptique et la teneur en ABVT chez la sardine conservée à température ambiante (16 – 19°C), l'équation de la droite de régression linéaire est :

$y = -0,131x + 4,456$; où y est la valeur de l'indice de fraîcheur (note organoleptique) et x est la valeur de l'ABVT, avec un coefficient de corrélation linéaire $R = -0,98$.

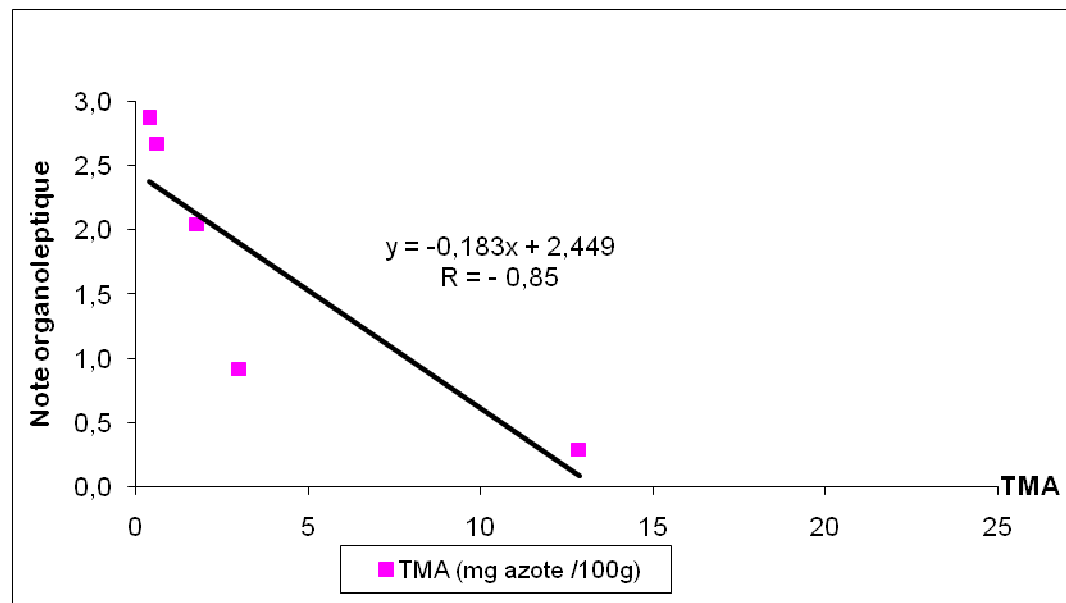


Figure 13 : Corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en TMA chez la sardine conservée à T° ambiante : 16 – 19°C

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une bonne corrélation linéaire négative entre l'évolution organoleptique et la teneur en TMA chez la sardine conservée à température ambiante (16 – 19°C), l'équation de la droite de régression linéaire est :

$y = -0,183x + 2,449$; où y est la valeur de l'indice de fraîcheur (note organoleptique) et x est la valeur de la TMA avec un coefficient de corrélation linéaire $R = -0,85$

3. Evolution du rapport $P = \text{TMA}/\text{ABVT}$:

Les résultats de l'évolution du rapport $P = \text{TMA}/\text{ABVT}$ de la sardine conservée à température ambiante (16 – 19°C) sont rapportés dans le tableau n° 26, et la figure n°14.

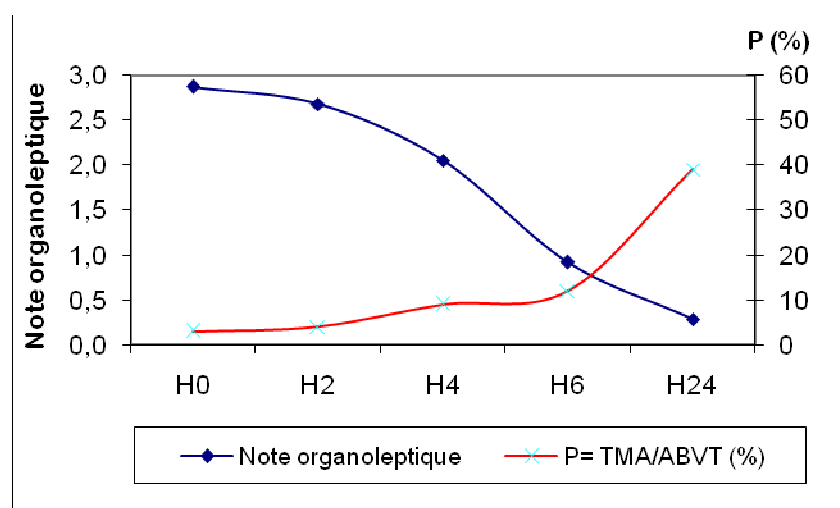


Figure 14 : Evolution des paramètres organoleptiques et du rapport P=TMA/ABVT de la sardine conservée à T° ambiante (16 – 19°C)

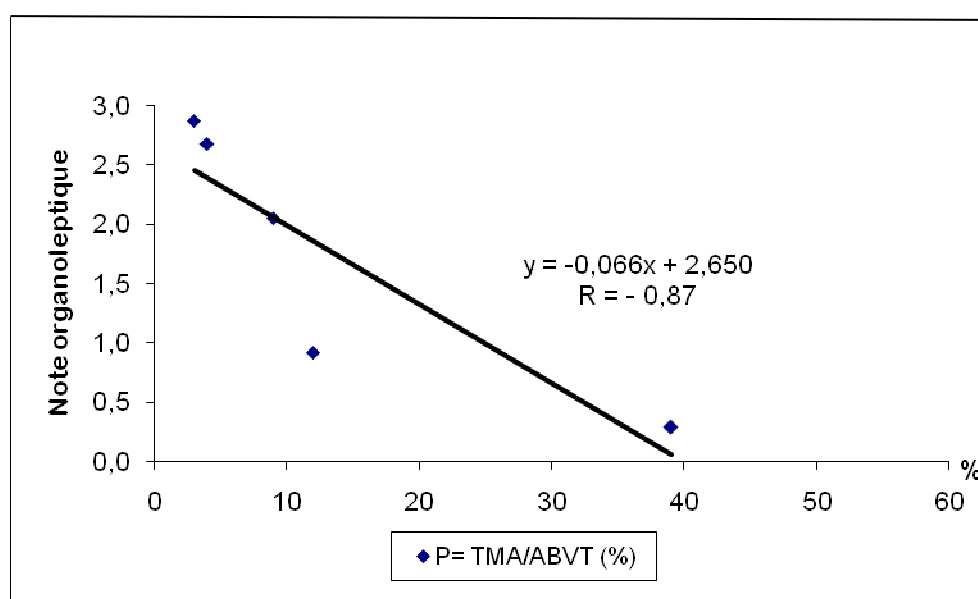


Figure 15 : Corrélation entre l'appréciation organoleptique et l'évolution du rapport P=TMA/ABVT chez la sardine conservée à T° ambiante : 16 – 19°C

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une bonne corrélation linéaire négative entre l'évolution organoleptique et l'évolution du rapport P=TMA/ABVT chez la sardine conservée à température ambiante (16 – 19°C), l'équation de la droite de régression linéaire est : $y = -0,066x + 2,650$; et le coefficient de corrélation linéaire $R = -0,87$.

B. Sardine conservée à température ambiante entre 32 – 35°C :

1. Evolution des paramètres organoleptiques et chimiques (teneur en ABVT, TMA):

Les résultats chiffrés, consignés dans le tableau 28 et la figure 16 représentent l'évolution de l'appréciation organoleptique et la production de l'ABVT, TMA dans la sardine conservée à température ambiante entre 32 et 35°C.

Tableau 28: Evolution des paramètres organoleptiques et la teneur en ABVT, TMA
de la sardine conservée à température ambiante (32– 35°C) Moyenne $\pm$ Ecart-type

Heures de stockage Paramètres de qualité	H0	H2	H4	H6	H24
Note organoleptique	2,81 $\pm$ 0,09	1,48 $\pm$ 0,22	0,44 $\pm$ 0,28	0,14 $\pm$ 0,26	0,00 $\pm$ 0,00
ABVT (mg N/100g)	16,20 $\pm$ 0,63	22,80 $\pm$ 1,40	27,93 $\pm$ 1,69	31,53 $\pm$ 1,06	41,40 $\pm$ 2,36
TMA (mg N/100g)	0,89 $\pm$ 0,23	3,04 $\pm$ 1,23	12,09 $\pm$ 2,64	12,09 $\pm$ 1,78	23,55 $\pm$ 1,81
P = TMA/ABVT (%)	4,8 $\pm$ 1,6	12,8 $\pm$ 4,9	37,7 $\pm$ 8,2	37,7 $\pm$ 4,5	56,2 $\pm$ 1,5

H4= Temps de rejet organoleptique
00= indice de fraîcheur nul.

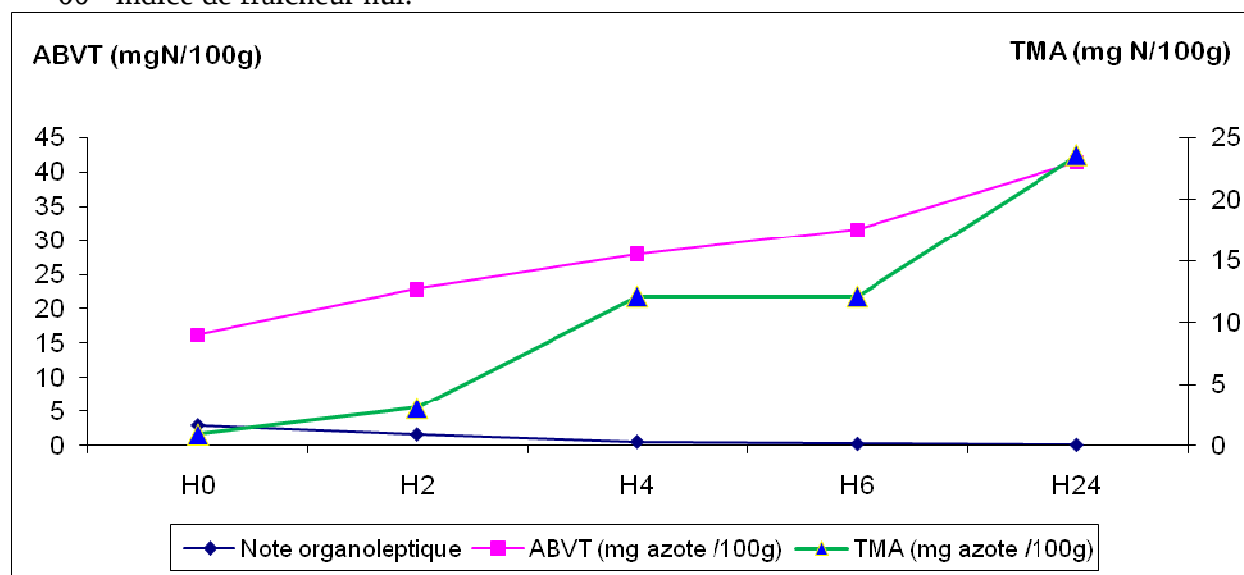


Figure 16: Evolution des paramètres organoleptiques et chimiques (teneur en ABVT, TMA) de la sardine conservée à T° ambiante (32 – 35°C)

Le degré de fraîcheur au début du stockage (H0) de la sardine à température ambiante entre 32 – 35°C est de $2,81 \pm 0,09$ (catégorie Extra), alors que la teneur en ABVT est de $16,20 \pm 0,63$ et la teneur en TMA est de $0,89 \pm 0,23$. Nous avons noté une évolution très rapide de l'ABVT et de la TMA qui ont marquées au temps de rejet organoleptique (H4), des teneurs de $27,93 \pm 1,69$ mg N/100g pour l'ABVT et de $12,09 \pm 2,64$ mg N/100g pour la TMA pour un degré de fraîcheur de $0,44 \pm 0,28$ (Non admis).

2. Corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en ABVT, TMA :

La corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en ABVT, TMA chez la sardine conservée à T° ambiante entre 32 et 35°C est représentée respectivement par les figures 17 et 18 :

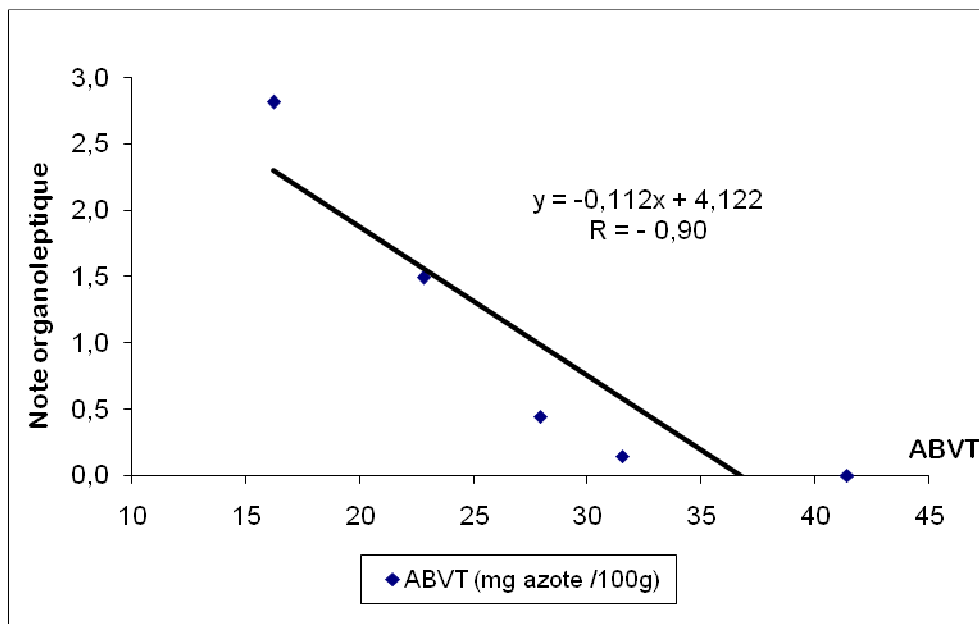


Figure 17 : Corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en ABVT chez la sardine conservée à T° ambiante : 32 – 35°C

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une forte corrélation linéaire négative entre l'évolution organoleptique et la teneur en ABVT chez la sardine conservée à température ambiante (32– 35°C), l'équation de la droite de régression linéaire est :

$y = -0,112x + 4,122$; où y est la valeur de l'indice de fraîcheur (note organoleptique) et x est la valeur de l'ABVT avec un coefficient de corrélation linéaire $R = -0,90$.

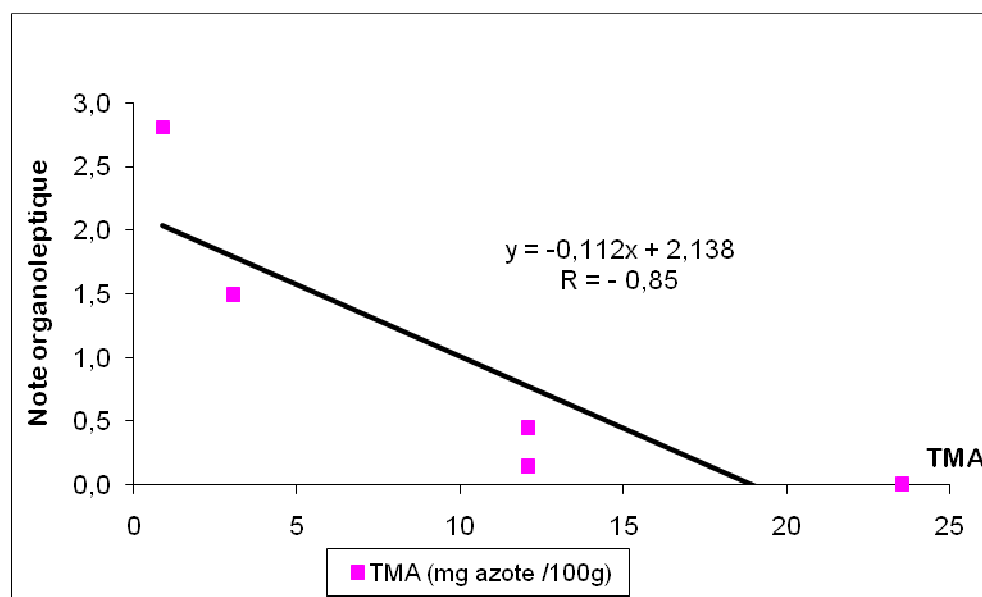


Figure 18: Corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en TMA chez la sardine conservée à T° ambiante : 32 – 35°C

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une bonne corrélation linéaire négative entre l'évolution organoleptique et la teneur en TMA chez la sardine conservée à température ambiante (32– 35°C), l'équation de la droite de régression linéaire est :

$y = -0,112x + 2,138$; où y est la valeur de l'indice de fraîcheur (note organoleptique) et x est la valeur de la TMA avec un coefficient de corrélation $R = -0,86$

3. Evolution du rapport $P = \text{TMA}/\text{ABVT}$:

Les résultats de l'évolution du rapport $P = \text{TMA}/\text{ABVT}$ de la sardine conservée à température ambiante (32 – 35°C) sont rapportés dans le tableau n° 28, et la figure n°19.

Nous avons remarqué une évolution très rapide du rapport $P = \text{TMA}/\text{ABVT}$ chez la sardine conservée à T° ambiante entre 32 et 35°C (Figure n°20). Les résultats obtenus montrent aussi qu'il existe une forte corrélation linéaire négative entre l'évolution organoleptique et l'évolution du rapport $P = \text{TMA}/\text{ABVT}$, l'équation de la droite de régression linéaire est : $y = -0,052x + 2,543$; et le coefficient de corrélation linéaire $R = -0,92$. (Figure 20).

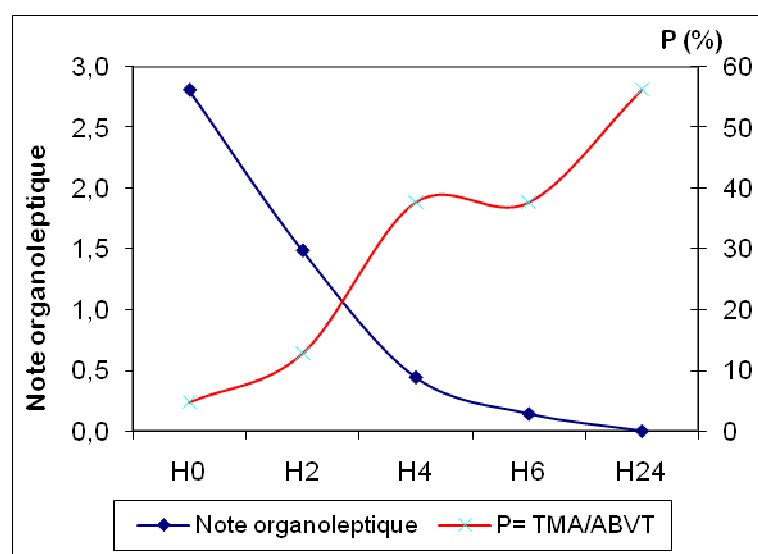


Figure 19 : Evolution des paramètres organoleptiques et du rapport P=TMA/ABVT de la sardine conservée à T° ambiante (32 – 35°C).

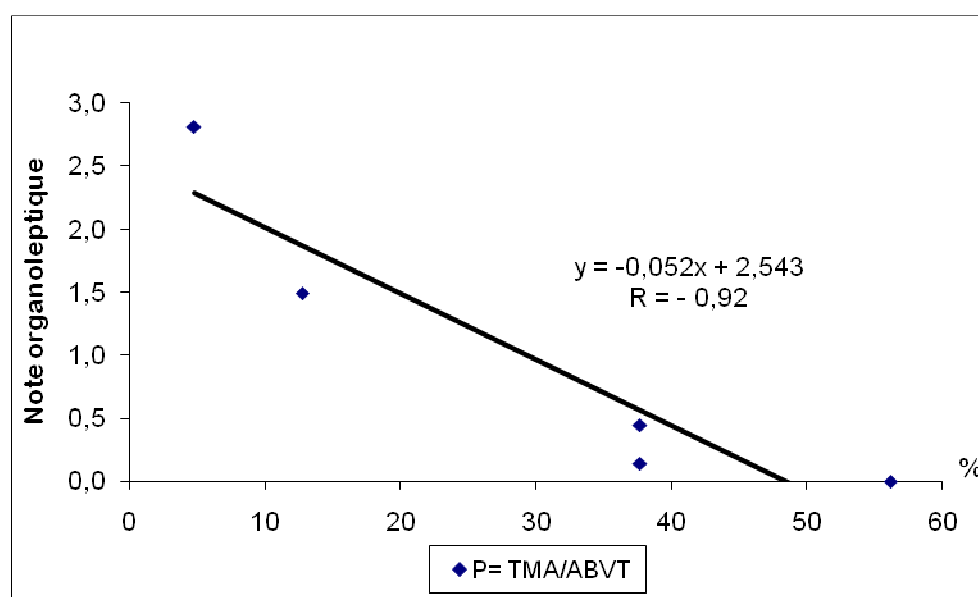


Figure 20 : Corrélation entre l'appréciation organoleptique et l'évolution du rapport P=TMA/ABVT chez la sardine conservée à T° ambiante : 32 – 35°C

C. Sardine conservée à température de réfrigération (2°C) :

1. Evolution des paramètres organoleptiques et chimiques (teneur en ABVT, TMA) :

Les résultats obtenus sur l'évolution organoleptique et la teneur en ABVT, TMA sont représentés dans le tableau 29 et la figure 21 :

Tableau 29: Evolution des paramètres organoleptiques et la teneur en ABVT, TMA de la sardine réfrigérée (2°C). Moyenne $\pm$ Ecart-type

Heures de stockage Paramètres de qualité	J ₁	J ₂	J ₃	J ₄	J ₅	J ₈	J ₉	J ₁₀
Note organoleptique	2,98 $\pm$ 0,04	2,64 $\pm$ 0,10	2,33 $\pm$ 0,17	1,75 $\pm$ 0,13	1,09 $\pm$ 0,15	0,55 $\pm$ 0,09	0,17 $\pm$ 0,13	0,00 $\pm$ 0,00
ABVT (mg N /100g)	16,08 $\pm$ 0,43	19,29 $\pm$ 0,30	21,00 $\pm$ 0,36	22,97 $\pm$ 0,48	26,33 $\pm$ 1,00	31,87 $\pm$ 0,87	36,45 $\pm$ 0,76	39,28 $\pm$ 0,81
TMA (mg N/100g)	0,58 $\pm$ 0,14	1,61 $\pm$ 0,24	3,06 $\pm$ 0,35	4,87 $\pm$ 0,36	5,83 $\pm$ 0,48	8,97 $\pm$ 0,55	11,15 $\pm$ 0,49	14,42 $\pm$ 1,33
P = TMA/ABVT(%)	3 $\pm$ 0,8	8 $\pm$ 1	14 $\pm$ 1,5	21 $\pm$ 1,3	22 $\pm$ 1,3	28 $\pm$ 1	30 $\pm$ 0,8	36 $\pm$ 2,8

J5= Temps de rejet organoleptique
00= indice de fraîcheur nul.

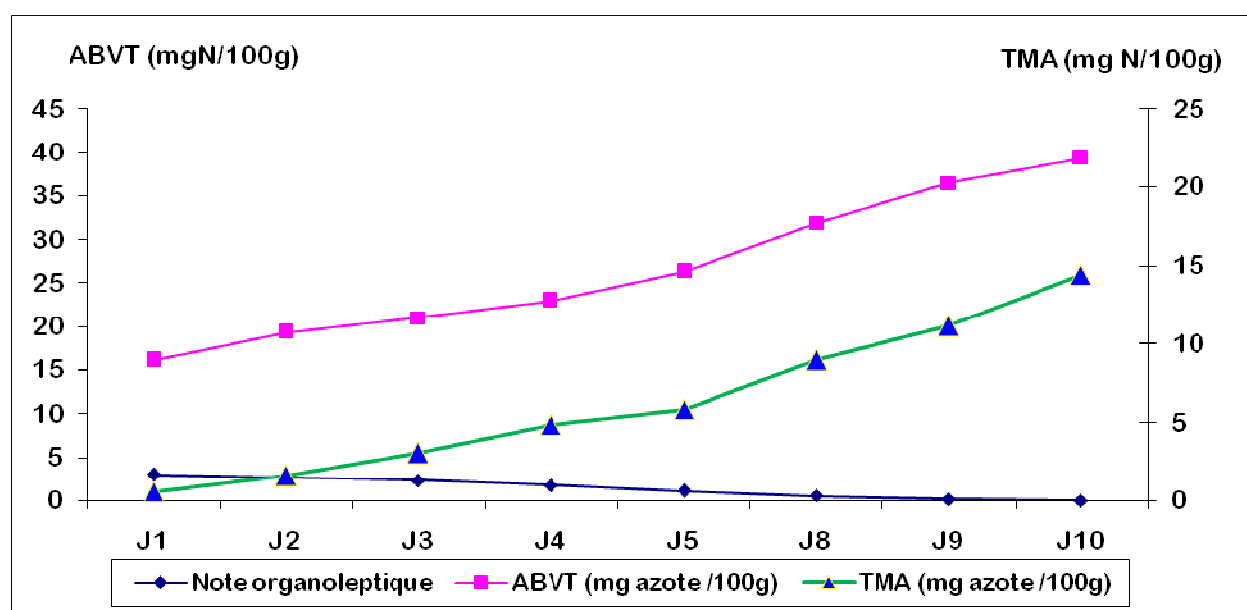


Figure 21 : Evolution des paramètres organoleptiques et chimiques (teneur en ABVT, TMA) de la sardine réfrigérée (2°C)

Au cours de l'entreposage sous réfrigération à 2°C, la teneur initiale moyenne (J1) en ABVT est de $16,08 \pm 0,43$ mg N/100g, $0,58 \pm 0,14$ mg N/100g en TMA et un indice de fraîcheur de $2,98 \pm 0,04$ ce qui correspond à une catégorie de fraîcheur de qualité Extra.

Les teneurs en ABVT et en TMA augmentent ensuite, et atteignent respectivement aux différents temps de rejet organoleptique (J5), des valeurs moyennes de $26,33 \pm 1,00$ mg N/100g et $5,83 \pm 0,48$ mg N/100g.

Comme le montre le tableau 28, la cotation de fraîcheur indique que les catégories de fraîcheur de la classe Excellente (E) ont été marquées pendant les deux premiers jours de stockage de la sardine réfrigéré à 2°C. Les catégories Bonnes (A) ont été obtenues entre le deuxième et le troisième jour de stockage. les catégories Acceptables (B) ont été marquées entre le quatrième et le cinquième jour.

La durée de conservation observée de la sardine réfrigérée à 2°C, comme déterminée par les membres du jury qui ont indiqué que les poissons (sardine) étaient inacceptables, était de 5 jours

2. Corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en ABVT, TMA :

La corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en ABVT, TMA chez la sardine conservée à T° de réfrigération (2°C) est représentée respectivement par les figures 22 et 23 :

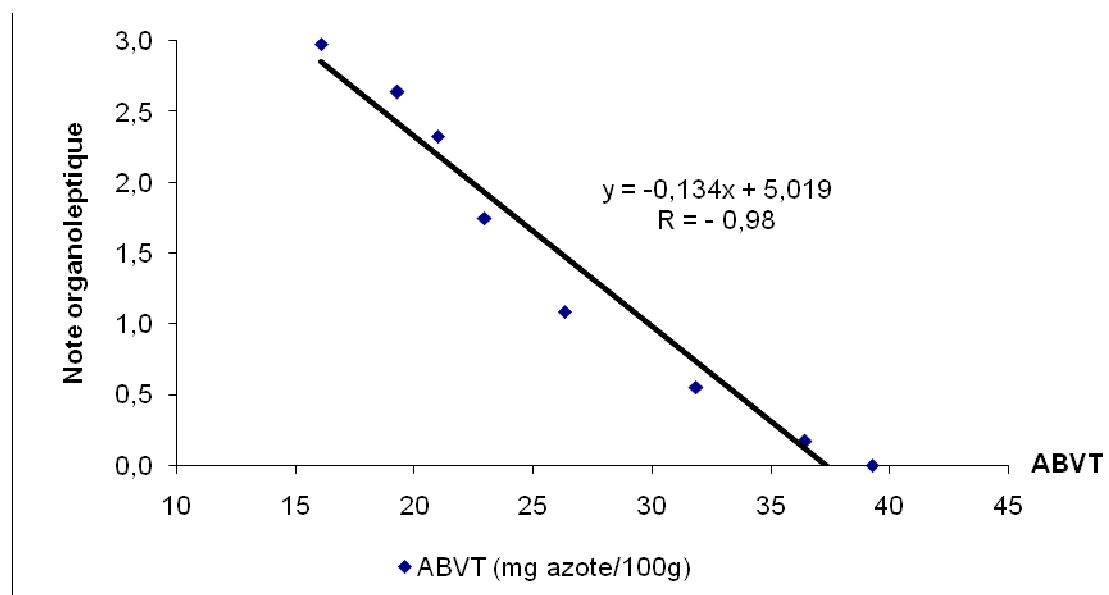


Figure 22 : Corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en ABVT chez la sardine conservée à T° de réfrigération (2°C)

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une forte corrélation linéaire négative entre l'évolution organoleptique et la teneur en ABVT chez la sardine conservée à T° de réfrigération (2°C), l'équation de la droite de régression linéaire est :

$y = -0,134x + 5,019$; où y est la valeur de l'indice de fraîcheur (note organoleptique) et x est la valeur de l'ABVT, avec un coefficient de corrélation linéaire $R = -0,98$.

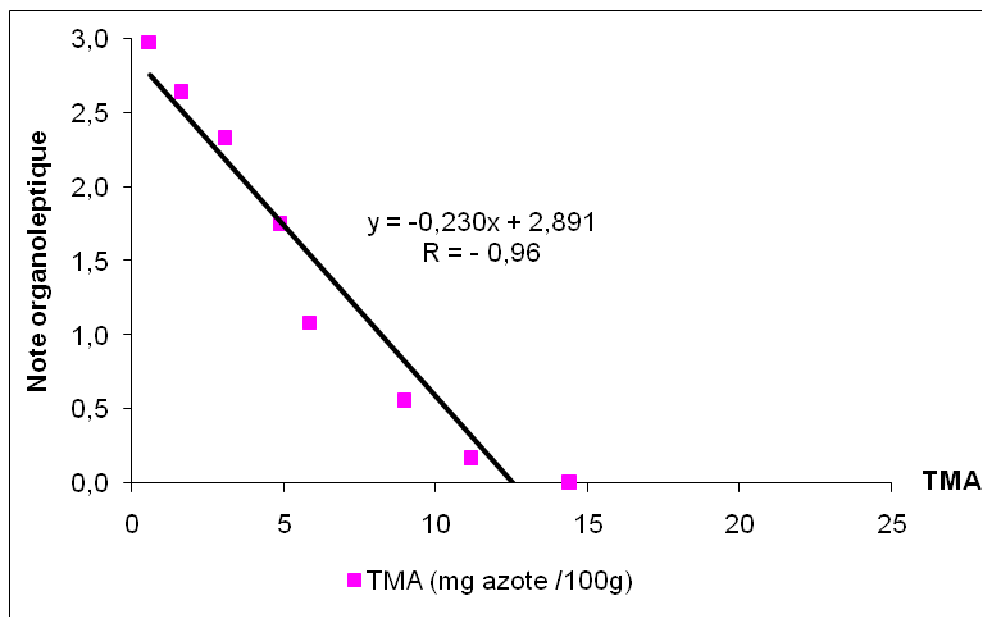


Figure 23: Corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en TMA chez la sardine conservée à T° de réfrigération (2°C)

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une forte corrélation linéaire négative entre l'évolution organoleptique et la teneur en TMA chez la sardine conservée à T° de réfrigération (2°C), l'équation de la droite de régression linéaire est :

$y = -0,230x + 2,891$; où y est la valeur de l'indice de fraîcheur (note organoleptique) et x est la valeur de la TMA avec un coefficient de corrélation linéaire $R = -0,96$

3. Evolution du rapport $P = \text{TMA/ABVT}$

Les résultats de l'évolution du rapport $P = \text{TMA/ABVT}$ de la sardine conservée réfrigérée (2°) sont rapportés dans le tableau n° 29, et la figure n°24.

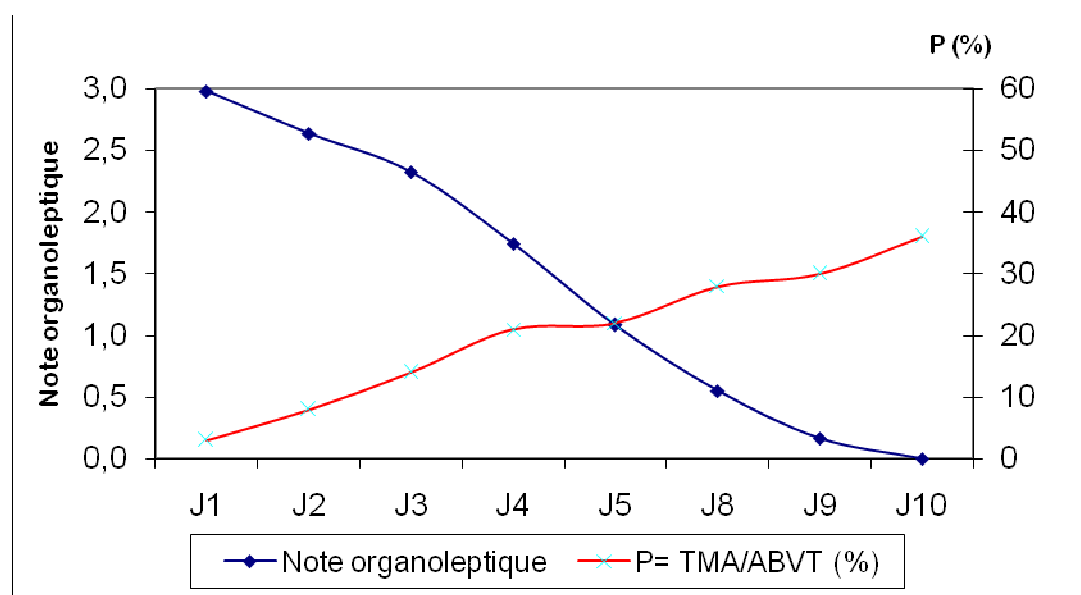


Figure 24 : Evolution des paramètres organoleptiques et du rapport $P=TMA/ABVT$ de la sardine conservée réfrigérée (2°C).

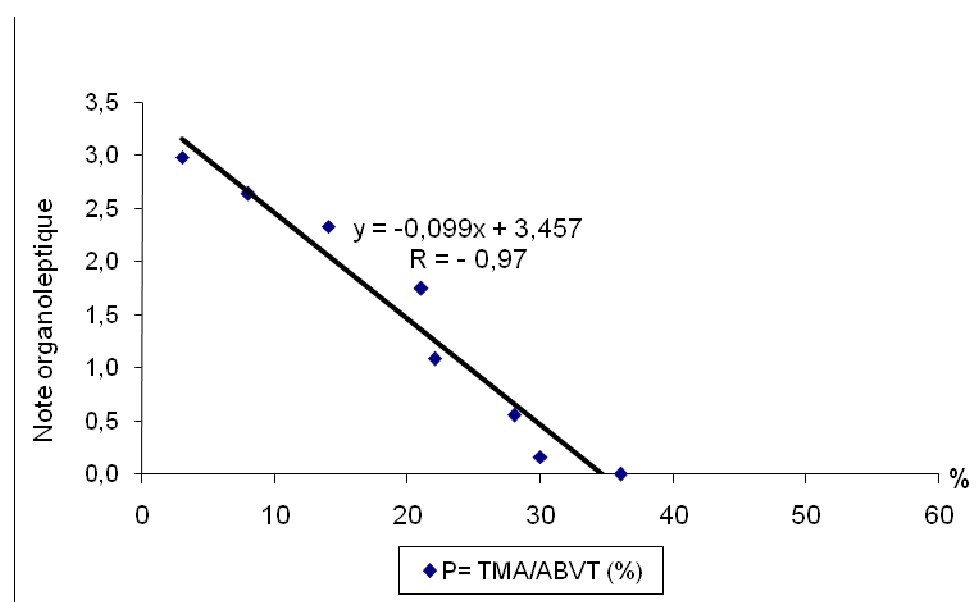


Figure 25 : Corrélation entre l'appréciation organoleptique et l'évolution du rapport $P=TMA/ABVT$ chez la sardine conservée réfrigérée (2°C).

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une forte corrélation linéaire négative entre l'évolution organoleptique et l'évolution du rapport $P=TMA/ABVT$ chez la sardine conservée réfrigérée, l'équation de la droite de régression linéaire est :

$y = -0,099x + 3,457$; et le coefficient de corrélation linéaire $R = -0,97$.

D. Sardine conservée sous glace (0 -5°C):

1. Evolution des paramètres organoleptiques et chimiques (teneur en ABVT, TMA) :

Les résultats obtenus sur l'appréciation organoleptique et la teneur en ABVT, TMA aux différents stades d'entreposage sous glace de la sardine sont consignés sur le tableau 30 et la figure 26 :

Tableau 30: Evolution des paramètres organoleptiques et la teneur en ABVT, TMA de la sardine conservée sous glace (0 – 5°C). Moyenne $\pm$ Ecart-type

Heures de stockage / Paramètres de qualité	J ₁	J ₂	J ₃	J ₄	J ₅	J ₈	J ₉	J ₁₀
Note organoleptique	2,96 $\pm$ 0,08	2,74 $\pm$ 0,06	1,97 $\pm$ 0,33	0,66 $\pm$ 0,41	0,12 $\pm$ 0,14	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
ABVT(mgN/100g)	15,70 $\pm$ 0,30	19,94 $\pm$ 0,79	24,16 $\pm$ 0,40	26,93 $\pm$ 0,94	30,97 $\pm$ 0,79	37,41 $\pm$ 0,56	39,24 $\pm$ 0,34	40,86 $\pm$ 0,35
TMA (mgN /100g)	0,71 $\pm$ 0,33	1,69 $\pm$ 0,16	2,78 $\pm$ 0,14	4,25 $\pm$ 0,73	7,09 $\pm$ 1,32	12,10 $\pm$ 0,50	13,75 $\pm$ 0,50	15,57 $\pm$ 0,48
P = TMA/ABVT(%)	3,75 $\pm$ 2	8 $\pm$ 1	11 $\pm$ 1	15,25 $\pm$ 2	22,25 $\pm$ 3	32 $\pm$ 1	34,5 $\pm$ 1	37,75 $\pm$ 1

J4= Temps de rejet organoleptique
00= indice de fraîcheur nul.

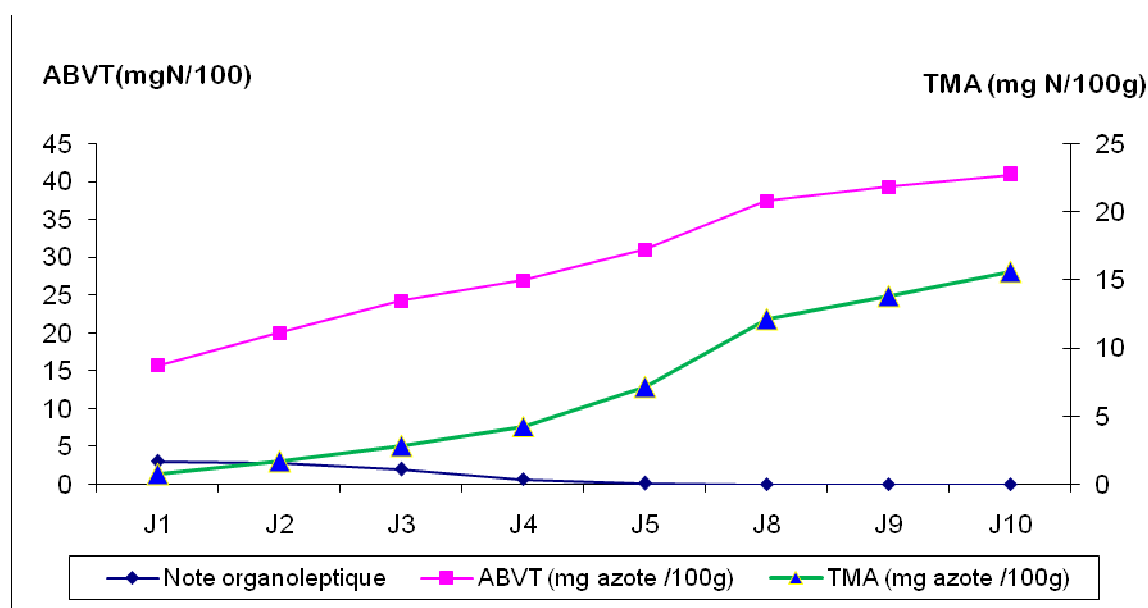


Figure 26: Evolution des paramètres organoleptiques et chimiques (teneur en ABVT, TMA) de la sardine conservée sous glace (0 – 5°C).

Au stade initial (J1), le degré de fraîcheur de la sardine conservée sous glace est de $2,96 \pm 0,08$. Les teneurs en ABVT, TMA sont respectivement de $15,70 \pm 0,30$ mg N/100g, $0,71 \pm 0,33$ mg N/100g. (Catégorie de fraîcheur Extra).

Au moment de rejet (J4), l'indice de fraîcheur est de $0,66 \pm 0,41$ et les teneurs en ABVT, TMA sont respectivement de $26,93 \pm 0,94$ mg N/100g, $4,25 \pm 0,73$ mg N/100g. (Non admis)

Comme le montre le tableau 29, la cotation de fraîcheur indique que les catégories de fraîcheur de la classe Excellente (E) ont été marquées pendant les deux premiers jours de stockage de la sardine entreposée sous glace. Nous avons remarqué un passage direct de la catégorie excellente (E) à la catégorie acceptable sans passer par la catégorie bonne (A). Les catégories Acceptables (B) ont été marquées entre le troisième et le quatrième jour de stockage sous glace.

La durée de conservation observée de la sardine entreposée sous glace, comme déterminée par les membres du jury qui ont indiqué que les poissons (sardine) étaient inacceptables, était de 4 jours.

2. Corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en ABVT, TMA :

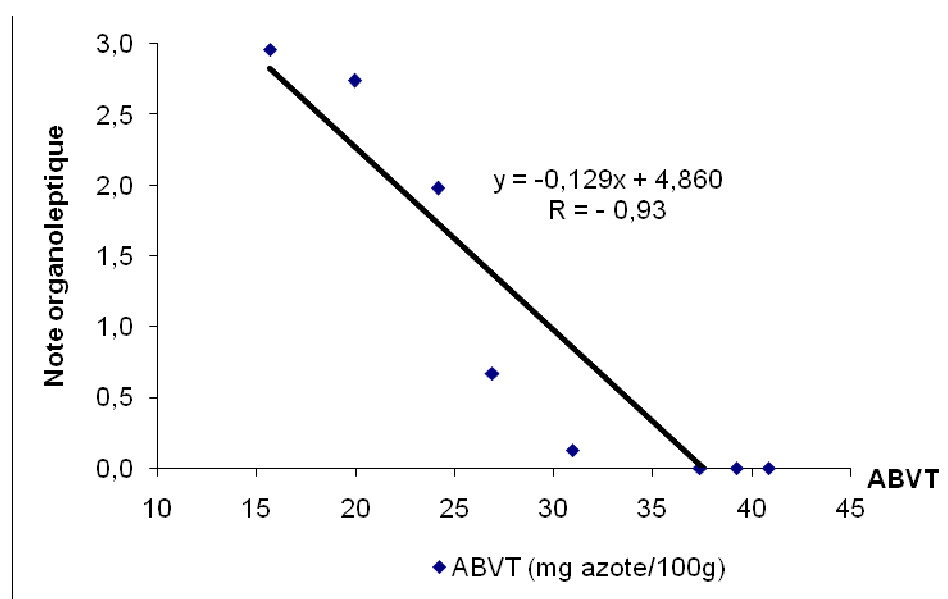


Figure 27 : Corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en ABVT chez la sardine conservée sous glace ($0 - 5^{\circ}\text{C}^{\circ}$).

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une forte corrélation linéaire négative entre l'évolution organoleptique et la teneur en ABVT chez la sardine conservée sous glace.

L'équation de la droite de régression linéaire est : $y = -0,129x + 4,860$; où y est la valeur de l'indice de fraîcheur (note organoleptique) et x est la valeur de l'ABVT, avec un coefficient de corrélation linéaire $R = -0,93$.

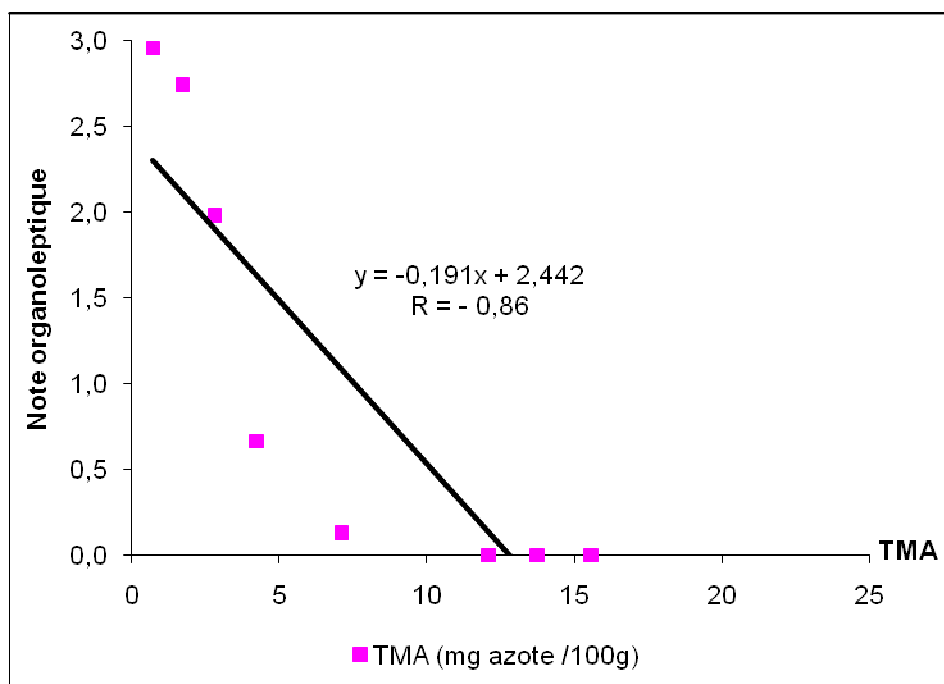


Figure 28: Corrélation entre l'appréciation organoleptique et la teneur en TMA chez la sardine conservée sous glace (0 – 5°C°).

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une bonne corrélation linéaire négative entre l'évolution organoleptique et la teneur en TMA chez la sardine conservée sous glace.

L'équation de la droite de régression linéaire est :

$y = -0,191x + 2,442$; où y est la valeur de l'indice de fraîcheur (note organoleptique) et x est la valeur de la TMA avec un coefficient de corrélation de $R = -0,86$

3. Evolution du rapport $P = \text{TMA/ABVT}$

Les résultats de l'évolution du rapport $P = \text{TMA/ABVT}$ de la sardine conservée sous glace sont rapportés dans le tableau n° 30, et la figure n°29.

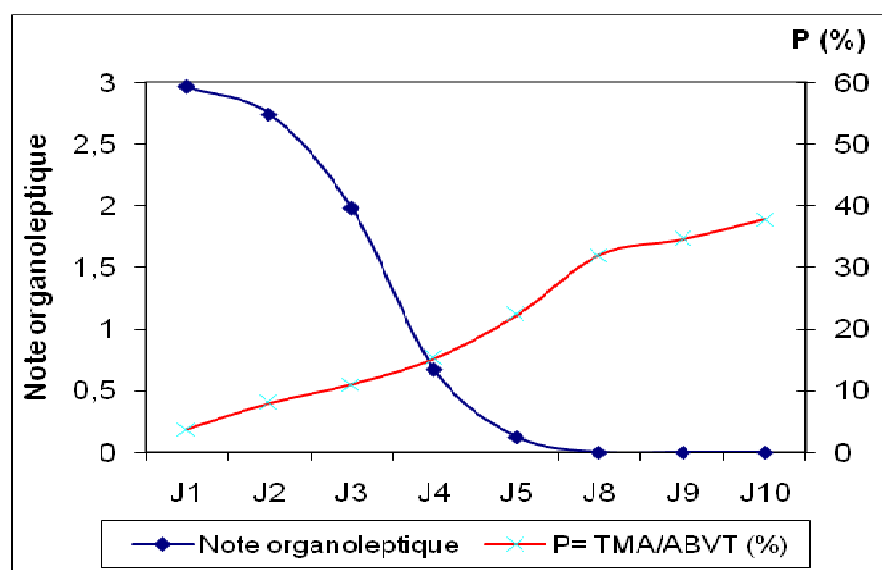


Figure 29: Evolution des paramètres organoleptiques et du rapport P=TMA/ABVT de la sardine conservée sous glace (0 – 5°C).

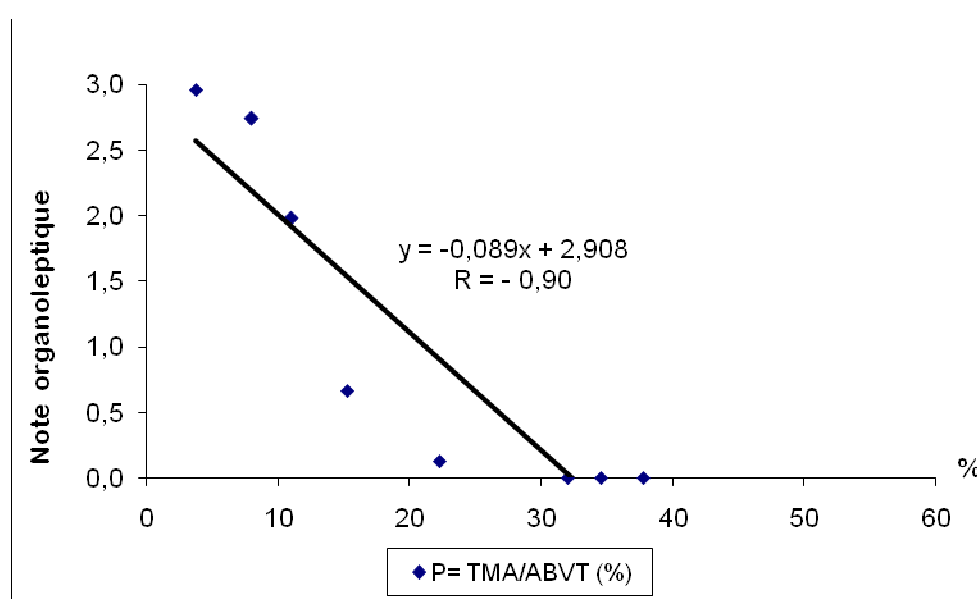


Figure 30 : Corrélation entre l'appréciation organoleptique et l'évolution du rapport P=TMA/ABVT chez la sardine conservée sous glace (0 – 5°C).

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une forte corrélation linéaire négative entre l'évolution organoleptique et l'évolution du rapport P=TMA/ABVT chez la sardine conservée sous glace, l'équation de la droite de régression linéaire est :

$y = -0,089x + 2,908$; et le coefficient de corrélation linéaire $R = -0,97$.

E. Comparaison entre les résultats de la sardine entreposée sous différents modes de conservation :

La comparaison entre la sardine entreposée à T° ambiante entre 16°- 19°C et la sardine entreposée à T° ambiante entre 32°- 35°C, montre que l'évolution des caractères organoleptiques et de la teneur en ABVT, TMA est nettement plus rapide dans les lots conservés à T° ambiante entre 32°- 35°C.

L'analyse statistique effectuée sur les résultats de l'ABVT et de la TMA obtenus dans les différents heures de conservation , montre qu'il existe des différences significatives ($p < 0,05$) entre la sardine conservée à T° ambiante entre 16 – 19°C et la sardine conservée à T° ambiante entre 32 – 35°C.

Par contre il n'existe pas de différences significatives ($p \geq 0,05$) entre la sardine conservée réfrigérée (2°C) et la sardine conservée sous glace (0 – 5°C).

Tableau 31 : Récapitulatif des résultats au moment de rejet.

T°de conservation	T° hiver (16-19°C)	T° été (32-35°C)	Réfrigéré (2°C)	Sous glace (0-5°C)
Temps de rejet	H6	H4	J ₅	J ₄
Note organoleptique	0,92±0,31	0,44±0,28	1,09±0,15	0,66±0,41
ABVT (mg N/100g)	23,87±0,52	27,93±1,69	26,33±1,00	26,93±0,94
TMA (mg N/100g)	3,02±0,35	12,09±2,64	5,83±0,48	4,25±0,73
P=TMA/ABVT (%)	12 ± 1	37,7 ± 8,2	22 ± 1,3	15,25 ± 2

T°= Température.

H = Heure.

J = Jour.

III. Discussion :

1. L'évolution organoleptique :

L'examen organoleptique fait appel aux caractères sensoriels pour évaluer l'apparence, la texture, l'odeur et le goût.

Une telle démarche, bien qu'elle aboutisse à des résultats inévitablement subjectifs, est d'une grande importance pratique, car elle représente la base sur laquelle l'agent d'inspection et le consommateur averti acceptent ou rejettent le poisson.

L'appréciation organoleptique a permis de définir les temps de rejet organoleptique correspondants à différents modes de conservation de la sardine fraîche (*Sardina pilchardus*).

A température ambiante, la durée de conservation est de 15 heures pour la sardine entreposée entre 16 – 19°C, et 7 heures pour la sardine entreposée à des températures entre 32 – 35°C.

Des délais de 12 heures sont rapportés pour la sardine conservée à température ambiante de 25°C (Ababouch et al. , 1992).

Chaouqy et El Marrakchi, (2005), ont travaillé sur l'anchois (*Engraulis encrasicolus*) entreposé sous glace et à moyenne température (20 – 25°C), leurs résultats montrent que la durée de conservation de l'anchois entreposé sous glace est de 6 jours, alors qu'elle est de 12 heures à température ambiante.

L'examen organoleptique nous a permis de confirmer que **la sardine se conserve réfrigérée (2°C) pendant 5 jours, et sous glace (0 – 5°C) pendant 4 jours.**

Des résultats ont été rapportés par certains chercheurs ont montré que la sardine se conserve pendant 6 jours à 0°C et 4 jours à 4°C (Gökoğlu et Yerlikaya, 2004).

D'autres chercheurs ont rapporté que la sardine conservée sous glace ne pourrait pas être acceptée après 7 jours (Nuray et Özkan, 2008) et 6 jours pour la sardine conservée à 4°C (Gökoğlu et al., 1998). Des délais comparables (4 à 6 jours) sont rapportés pour la sardine marocaine (Ababouch et al. , 1992, El Marrakchi et al. , 1990, El Marrakchi et al. , 1994).

Pour la sardine capturée au large des côtes portugaises, la durée de conservation est de 5 jours sous glace (Nunes et al. , 1992).

Ces délais courts de conservation s'expliquent par la forte proportion des bactéries psychrotrophes chez le poisson capturé dans les eaux tempérées ou froides (Berna et al., 2008), (Bennour. , 1991),(El Marrakchi et al., 1982), (Shewan, 1977).

En 2008, Berna et al., ont montré que les petits pâtés de sardine stockés à 4°C ont été déterminés comme « acceptables » jusqu'au jour 4, cependant au 5^{eme} jour, ils n'étaient plus acceptables selon les résultats de l'analyse sensorielle.

La méthode sensorielle utilisée avait aussi pour but de déterminer les caractères organoleptiques, qui par leur spécificité et/ou leur répétabilité, peuvent constituer des critères fiables dans l'inspection qualitative de routine. A ce sujet, nous ne pouvons qu'émettre des observations qui attendront leur confirmation dans les études futures qui auront examiné plus spécialement et sur un nombre plus élevé d'échantillons.

Sur la sardine « *Sardina pilchardus* » la présence de la tâche rouge intense sur les opercules indique la fraîcheur de la sardine. L'odeur des branchies et la cavité abdominale constitue également un critère potentiel à considérer. D'autres critères nous semblent intéressants à retenir comme les changements de la cornée des yeux et l'adhérence de la colonne vertébrale à la chair.

En revanche, il est à noter que la sardine perd facilement ses écailles, présente une extrême fragilité de la paroi abdominale, avec parfois sortie des viscères. Ces caractères ne doivent pas à eux seuls motiver le rejet de poisson ou la sanction de l'inspecteur, qui doit s'en servir seulement comme complément d'observations dans le cadre de l'examen organoleptique.

La fragilité de la paroi abdominale avec perforation, même si elle ne concerne que quelques individus du lot, entraîneront la libération des germes dans le milieu extérieur et par conséquent l'altération plus précoce de poisson. Ces facteurs peuvent limiter la durée de conservation de la sardine sous glace (Bennour et al. , 1994).

Dans l'industrie de la pêche, l'évaluation sensorielle des poissons à la réception du produit est utilisée comme moyen de contrôle et de gestion de la qualité afin de s'assurer que les produits répondent aux espérances des acheteurs et des autorités réglementaires. Le poisson est habituellement évalué entier avant transformation ultérieure.

L'évaluation sensorielle nécessite la mise en place et la formation de panel sensoriel ou d'inspecteurs entraînés. Pour éviter les erreurs d'appréciation, il est nécessaire de suivre les systèmes, les directives et les normes d'évaluations définis. Pour que les résultats soient fiables, les membres du jury doivent être formés et suivre des directives claires et précises.

2. Evolution de l'ABVT :

La putréfaction résulte de l'action conjuguée des réactions de glycolyse, lipolyse et protéolyse. Chez le poisson, pour apprécier le niveau de dégradation, on s'intéresse davantage au catabolisme des substances protéiques, compte-tenu de sa pauvreté en glucides, de la complexité des lipides et de leur variabilité qualitative.

Sans vouloir négliger l'action des enzymes tissulaires, il apparaît que c'est essentiellement sous l'action des enzymes bactériennes que les protéines sont hydrolysées en peptides puis en acides aminés. Ceux-ci sont ensuite métabolisés selon 2 voies principales :

Les désaminations conduisant à l'ammoniac et à divers chaînes hydrocarbonées, et les décarboxylations conduisant à la formation d'amines souvent volatiles et responsables de l'odeur spécifique des putréfactions (Malle et al. , 1989).

Par ailleurs, de nombreuses bactéries peuvent, en l'absence d'oxygène, produire de la triméthylamine (TMA) en utilisant comme accepteur d'hydrogène l'oxyde de TMA, substance présente dans le tissu musculaire du poisson marin. Il se forme ainsi un certain nombre de composés azotés présentant en commun la basicité et la volatilité, dosables par acidimétrie après entraînement à la vapeur ou microdiffusion. Cet ensemble, formé par l'ammoniac et diverses amines volatiles dont la triméthylamine, constitue l'azote basique volatil total (A.B.V.T.) (Malle et al. , 1989).

Les résultats de notre étude, montrent que le dosage de l'ABVT ne peut rendre compte de l'évolution de la qualité de la sardine pendant les premiers stades du stockage. Par conséquent, il ne permet pas d'établir différentes classes de fraîcheur, mais il peut être retenu comme indice fiable et objectif pour distinguer entre un poisson frais et un poisson altéré du moment que son évolution dans le muscle de la sardine corrèle bien avec l'altération organoleptique quelque soit la température de conservation. Notre étude confirme qu'il existe une forte corrélation entre l'analyse sensorielle et la teneur en ABVT quelque soit le mode de conservation :

$R = -0,98$ pour la sardine conservée à température ambiante entre 16 – 19°C.

$R = -0,90$ pour la sardine conservée à température ambiante entre 32 – 35°C.

$R = -0,98$ pour la sardine conservée à température réfrigérée (2°C).

$R = -0,93$ pour la sardine conservée sous glace (0 – 5°C).

L'analyse statistique effectuée sur les résultats de l'ABVT obtenus dans les différents heures de conservation, montre qu'il existe des différences significatives ($p < 0,05$) entre la sardine conservée à T° ambiante entre 16 – 19°C et la sardine conservée à T° ambiante entre 32 – 35°C. Par contre il n'existe pas de différences significatives ($p \geq 0,05$) entre la sardine conservée réfrigérée (2°C) et la sardine conservée sous glace.

Le dosage de l'ABVT ne rend pas compte des changements survenant durant les premiers jours de stockage, néanmoins, cette mesure de l'ABVT apparaît très utile pour établir la limite d'acceptabilité de la sardine.

Notre résultats montrent que : Aux différents temps de rejet organoleptique et quelque soit le mode de conservation (T° ambiante, réfrigéré ou sous glace), les teneurs en ABVT se situent entre 24 et 27mgN/100g de muscle. Ces valeurs d'ABVT ont coïncidé avec les limites d'acceptabilités fixés pour certaines catégories des poissons, tels que poissons gras (sardine, maquereau, harengs) (Nuray et Özkan, 2008) (Sikorski et al., 1990).

Des teneurs inférieures ou égale à 25mgN/100g de muscle sont proposées pour la sardine capturées dans les eaux marocaines (El Marrakchi et al., 1990).

3. Evolution de la TMA :

La TMA (produit de la dégradation ou de la réduction de l'OTMA au cours de l'altération bactérienne) est un composé azoté volatil. La signification physiologique de la réduction de l'OTMA est qu'elle est un accepteur final d'électrons permettant la croissance anaérobie de certaines bactéries, même celles n'ayant pas une origine marine. Les microorganismes responsables de cette activité possèdent tous une « OTMA réductase ». Elles appartiennent à différentes familles ou genre bactériens : Enterobacteriaceae, *Vibrio parahaemolyticus*, *Alteromonas sp*, *Campylobacter*, *Micrococcus* et *Flavobacterium* (Park et al., 1980).

Le niveau quantitatif de la TMA dans les poisson est considéré comme index important de la qualité des poissons de mer (Zhang et al., 2003).

Les résultats obtenus dans la présente étude montrent :

- que la TMA est un paramètre qui a marqué une augmentation progressive au cours des différents stades de l'entreposage de la sardine sous différents modes de conservations (T° ambiante, réfrigéré et sous glace).
- qu'il existe également une bonne corrélation entre l'analyse sensorielle et la teneur en TMA :

R= - 0,85 pour la sardine conservée a température ambiante entre 16 – 19°C.

R= - 0,86 pour la sardine conservée a température ambiante entre 32 – 35°C.

R= - 0,96 pour la sardine conservée a température réfrigérée (2°C).

R= - 0,86 pour la sardine conservée sous glace (0 – 5°C).

- L'analyse statistique effectuée sur les résultats de la TMA obtenus dans les différents heures de conservation , montre qu'il existe des différences significatives ($p < 0,05$) entre la sardine conservée à T° ambiante entre 16 – 19°C et la sardine conservée à T° ambiante entre 32 – 35°C. Par contre il n'existe pas de différences significatives ($p \geq 0,05$) entre la sardine conservée réfrigérée (2°C) et la sardine conservée sous glace. Cela s'explique par le fait que la TMA se forme en grande quantité dans la sardine à température ambiante élevée (lots conservés à T° ambiante entre 32 – 35°C). Par ailleurs, dans la sardine conservée réfrigérée et sous glace, son augmentation est faible au début du stockage et augmente rapidement au cours de l'altération. Cette évolution s'explique par l'inhibition de la flore productrice de la TMA, particulièrement les entérobactéries qui sont mésophiles (Malle et Poumeyrol, 1989). Une telle évolution très comparable rappelle celle trouvée par Kjosbakken , Storro et Larsen en 1983.

Ces résultats montrent l'existence d'une bonne corrélation négative entre l'évolution des caractères organoleptiques et la teneur en TMA. Le rôle des germes psychrotrophes à produire la TMA est plus significatif à des températures basses entre 0 et 8°C (Nuray et Özkan, 2008).

La TMA est considérée donc par plusieurs auteurs comme indice utile pour estimer le début de l'altération bactérienne du poisson (Berna et al., 2008, Nuray et Özkan, 2008, Bennour et

al. , 1991), car elle se trouve à des taux très faibles dans le poisson frais (0,1mg/ 100g) et s'accumule au fur et à mesure de l'altération (T° ambiante ou réfrigérée).

Les résultats de notre étude montrent qu'aux différents temps de rejet organoleptique, les teneurs en TMA se situent entre 3 et 5 mg N/100g de muscle.

La limite de rejet est habituellement 5 à 10 mgN/100g du muscle ; cependant, dans de nombreux poissons gras, la concentration de TMA n'atteint jamais la limite du 5 mgN/100g du muscle (Nuray et Özkan, 2008) (Ababouch et al., 1996) (El Marrakchi et al., 1990) (Sikorski et al., 1990)

Remarque importante :

Les résultats obtenus montrent que pour une même catégorie de fraîcheur nous avons obtenus des taux variable de l'ABVT et de la TMA enregistrées au cours du stockage sous les 4 modes de conservation (température ambiante, réfrigéré et sous glace).

A titre d'exemple nous avons remarqué que des teneurs en ABVT de $11,98 \pm 0,35$ mgN/100g correspond à une catégorie de fraîcheur de qualité Extra pour la sardine conservée à température ambiante entre 16 et 19°C et des teneurs en ABVT qui se situent entre $14,29 \pm 0,93$ et $19,34 \pm 0,67$ mgN/100g correspond à une catégorie de fraîcheur bonne qualité (Bon).

Des teneurs en ABVT qui se situent entre $16,08 \pm 0,43$ et $19,29 \pm 0,30$ mgN/100g de la sardine conservée réfrigérée correspond à une catégorie de fraîcheur de qualité Extra et une teneur de $21,00 \pm 0,36$ mgN/100g correspond à une catégorie de fraîcheur de bonne qualité.

De même, nous avons remarqué que la sardine conservée à température ambiante entre 32 et 35°C passe de la catégorie qualité Extra à la catégorie acceptable sans passer par la catégorie bonne. L'augmentation de la teneur en ABVT est attribuée à une croissance microbienne. En effet il existe une forte corrélation entre la production des bases azotées et la multiplication bactérienne (Chinivasagam et al. , 1996).

Il faut noter que des teneurs qui dépasse 25mgN/100g appartiennent toujours à une catégorie de fraîcheur Non admis quelque soit le mode de conservation utilisé.

Les mêmes variations existent en ce qui concerne les teneurs en TMA sous différents mode de conservation.

Ces variations expliquent la difficulté d'établir différentes classes de fraîcheur d'un point de vue teneur en ABVT, TMA mais il reste toujours que l'ABVT et la TMA sont des bons indicateurs de l'état d'altération de la sardine. Elles permettent d'évaluer approximativement la qualité.

4. Evolution du rapport $P = \text{TMA/ABVT}$:

Les dosages de l'ABVT et du TMA permettent d'estimer la dégradation de la sardine conservée dans différentes températures, en estimant le catabolisme des substances protéiques présentes.

L'ensemble des composés formés par l'ammoniac et diverses amines volatiles, dont la TMA, constitue l'azote basique volatil total (ABVT).

La TMA (Triméthylamine) est produite par certaines bactéries qui utilisent comme accepteur d'hydrogène l'oxyde de triméthylamine présente dans le tissu musculaire des poissons.

Le pourcentage de la TMA dans l'ABVT : $P = \text{TMA/ABVT}\%$ est ainsi un critère complémentaire de l'ABVT (Malle et al. ; 1989).

Le suivi de l'évolution du rapport $P = \text{TMA/ABVT}$ a confirmé les résultats obtenus sur la teneur en ABVT.

- Nous avons remarqué que quelque soit le mode de conservation de la sardine (T° ambiante, réfrigérée ou sous glace), il existe toujours une forte corrélation entre l'évolution organoleptique et l'évolution du rapport $P = \text{TMA/ABVT}$:

$R = -0,87$ pour la sardine conservée a température ambiante entre 16 – 19°C.

$R = -0,92$ pour la sardine conservée a température ambiante entre 32 – 35°C.

$R = -0,97$ pour la sardine conservée a température réfrigérée (2°C).

$R = -0,90$ pour la sardine conservée sous glace (0 – 5°C).

Nous avons remarqué aussi que l'évolution du rapport $P = \text{TMA/ABVT} (\%)$ était très rapide chez la sardine conservée à t° ambiante entre 32 et 35°C, ce qui confirme les fortes teneurs en TMA a des températures de stockage qui sont élevées.

La TMA entre dans la composition de l'ABVT, il n'est donc pas surprenant que sa teneur régresse comme régresse probablement la teneur individuelle de chacune des amines volatiles.

Lorsqu'on compare les rapports $P = \text{TMA/ABVT} (\%)$ avant et après le temps de rejet organoleptique on décèle une augmentation considérable de P après le rejet ce qui montre que l'ABVT est un indicateur d'altération et qu'il est lié à la décomposition d'origine microbienne ou enzymatique des poissons.

5. Efficacité du glaçage et de réfrigération dans la conservation de la sardine :

- **Durée de conservation prolongée :** La raison essentielle de glacer le poisson est la prolongation de la durée de conservation du poisson frais d'une manière relativement simple par rapport au stockage du poisson non glacé à température ambiante, au-dessus de 0°C . Néanmoins la prolongation de la durée de conservation n'est pas une fin en soi, c'est un moyen de présenter un poisson frais sain et de qualité acceptable. La majorité du poisson débarqué peut être considérée comme une marchandise c'est-à-dire un article commercial. A l'inverse des autres produits alimentaires, la sardine est habituellement très périssable et il est donc de l'intérêt du vendeur et de l'acheteur d'assurer sa conservation du moins jusqu'à sa consommation en un produit moins périssable. Le glaçage et la réfrigération en général, rendant possible une extension de la durée de conservation du poisson.

Ces résultats montrent que l'utilisation de la glace et de la réfrigération dans la conservation de la sardine a plusieurs raisons :

- **Réduction de la température :** En abaissant la température aux environs de 0°C , le développement des micro-organismes d'altération et pathogènes est réduit, diminuant ainsi le taux d'altération et réduisant ou éliminant certains risques de santé publique. L'abaissement de la température réduit aussi la vitesse des réactions enzymatiques, en particulier celles liées aux changements précoces post mortem, augmentant ainsi, s'il est bien conduit, la période de rigor mortis (Huss, 1994). L'abaissement de la température du poisson est, de loin, l'effet le plus important de l'utilisation de la glace. Par conséquent, les résultats sont d'autant meilleurs que la

réfrigération est rapide. Les avantages de la réfrigération rapide l'emportent habituellement sur les autres considérations (Huss, 1994).

- **La glace fondante maintient l'humidité du poisson :** Cette action évite surtout la déshydratation de la surface et réduit les pertes de poids. L'eau de fusion augmente aussi l'échange de température entre la surface du poisson et de la glace (Huss, 1994)

D'après les résultats obtenus dans notre étude, quatre classe de qualité sont distinguées en fonction des teneurs en ABVT (en mg N/100g de chair) :

1. Qualité satisfaisante : < 20 mg N/100g.
2. Qualité moyenne (acceptable) : 20 à 24 mg N/100g.
3. En voie d'altération : > 24 à 30 mg N/100g.
4. Putréfaction : > 30 mg N/100g.

Selon le mode de conservation utilisé, la limite supérieure acceptable de l'ABVT se situe entre 24 et 27 mg N/100g

Pour la TMA, on peut proposer les classes de qualité suivantes :

1. Qualité satisfaisante : 0 à 1 mg N/100g.
2. Qualité moyenne : 1 à 4 mg N/100g.
3. En voie d'altération : > 4 à 7mg N/100g.
4. Putréfaction : > 7mgN/100g

Selon le mode de conservation utilisé, la limite supérieure acceptable de la TMA se situe entre 4 et 5 mg N/100g

6. Méthodes utilisées :

L'étude des phénomènes d'altération responsable des modifications post-mortem de la sardine a permis la mise au point de quelques techniques d'évaluation de l'état de fraîcheur. Ces outils ont par là même contribué à dégager des critères concrets permettant de mieux définir la notion de fraîcheur.

La méthode de dosage de l'ABVT et de la TMA par entraînement à la vapeur utilisée dans la présente étude présente quelques avantages et quelques inconvénients.

Avantage :

- Facilité de mise en œuvre.
- Rapidité d'exécution.
- Peu de facteurs d'erreurs.

Inconvénient :

- Investissement relativement important.
- Utilisation de volumes importants de réactifs.

Il est à noter donc que les critères chimiques ne constituent qu'un élément d'appréciation de poissons et que d'autres techniques gardent toute leur importance, notamment l'analyse organoleptique.

En Algérie, le contrôle sanitaire des produits de la pêche soulève à l'heure actuelle un déficit considérable en matière de textes règlementaires relatifs au secteur, malgré la gravité de la situation qui prévaut au regard des conditions sanitaires dans les quelles sont commercialisés les produits de la mer et particulièrement les petits pélagiques. S'il est compréhensible que le recours au contrôle chimique n'est pas encore été envisagé car impliquant des investissements et des techniques coûteux ainsi qu'un personnel hautement qualifié, il est néanmoins très nécessaire de mettre en place le système de contrôle organoleptique reposant sur les barèmes de cotations de fraîcheur des produits. Ce système qui ne nécessite aucun équipement, ni matériel et qui n'exige qu'un nombre très réduits de personnel formé sur le tas, correspond aux caractéristiques d'une espèce comme la sardine dont la sensibilité et la fragilité exigent une manipulation très rapide. Ainsi recommandons-nous que ce système soit institué règlementairement de manière à être appliqué à travers tous les centres de production et de commercialisation. Le contrôle chimique restant réservé aux cas critiques et/ou douteux et aux produits destinés à l'exportation ou provenant de l'importation.

L'avantage du système organoleptique lié à la possibilité de sa mise en œuvre par un personnel pourvu d'une qualification exclusivement pratique et qu'il peut être confié à toutes les institutions concernées par la santé du consommateur où qu'il soit (APC, Commerce, Santé, Agriculture, Pêche, Service de Sécurité...). Et seule la conjugaison des efforts de toutes ces instances réunies peut à notre sens permettre de fournir au consommateur un produit sain quelque soient la saison et le lieu de commercialisation.

IV. Recommandations

Dans la pratique, nous avons constaté que les pêcheurs soit ils n'utilisent pas de glace, soit ils utilisent une légère couche de glace en surface. De plus, ce glaçage n'est pas précoce. Les caisses en bois utilisées, d'une capacité de 20 – 25 kg, constituent par elles mêmes une véritable source de germes de contamination pour le poisson.

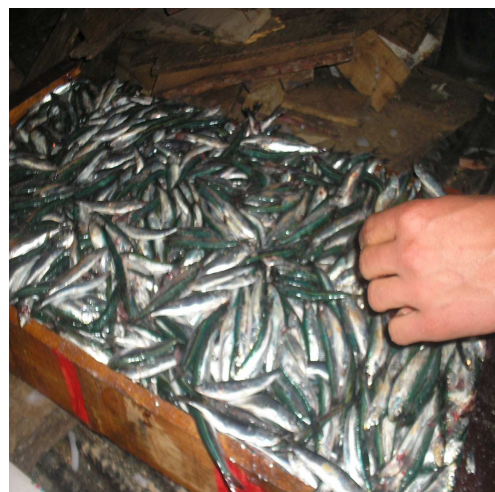


Figure 31 : Conditions hygiéniques défavorables de débarquement de la sardine et utilisation des caisses en bois au niveau du port de Zemmouri (Photos personnelles).

Devant cette situation où l'hygiène et le froid font défaut il est recommandé ce qui suit :

- **L'utilisation des caisses en plastique perforées** (pour permettre le drainage de l'eau de fusion de glace), facilement lavables.



Figure 32: Caisses en plastiques bien rangées (photo personnelle)

- **Le glaçage doit être précoce dès la capture** pour conserver le poisson dans un bon état organoleptique.
- **Respect de la chaîne de froid** : les conditions de temps et de température constituent en toutes circonstances, depuis la capture jusqu'à l'expédition, un point de contrôle destiné à prévenir la prolifération des bactéries productrices d'histamine et des bactéries d'altération.
- **Transport** : les véhicules transportant les poissons (sardines) doivent être propres, bien entretenus et aménagés de façon adéquate pour éviter toute rupture de la chaîne du froid.

La température frigorifique des véhicules doit être contrôlée avant chaque tournée et en fin de tournée.



Figure 33: Camions frigorifiques bien entretenus, photo personnelle

- **La vente** des poissons (sardines) doit être effectuée dans des locaux répondant aux normes de températures et d'hygiène.

➤ **Hygiène personnelle et charte de « comportement vis-à-vis la clientèle » :**

k

Vêtements : tenue propre exigée. Des vêtements de travail devraient remplacer les vêtements personnels durant les opérations de pêche et de commercialisation (transport, vente).

Toux/rhume : Eviter de tousser au-dessus des poissons.

Cheveux : de préférence courts.

Mains : doivent être lavées avant de commencer le travail, après passage aux toilettes et après avoir manipulé des objets souillés.

Les blessures doivent être protégées.

Maladies : le responsable ou l'armateur doit être informé.



Figure 34 : Hygiène des mains (Photo personnelle)

➤ **La formation des pêcheurs et du personnel à l'hygiène :**

La formation du personnel à l'hygiène est essentielle et indispensable dans toutes les démarches qualité. Les moyens de maîtrise de plusieurs risques retenus passent par le respect scrupuleux de ces règles d'hygiène. Les implications pour la santé publique et les conséquences économiques doivent être expliquées clairement au personnel.

Cette formation doit inclure les éléments suivants :

- Hygiène personnelle.
- Connaissance de base sur les bonnes pratiques hygiéniques.

➤ **Système de l'Analyse des Dangers - Maîtrise des Points Critiques (HACCP)**

Le grand avantage du système HACCP est qu'il constitue une approche d'assurance préventive de qualité, adaptable et réduisant les frais. S'il est bien appliqué, il n'y a pas d'autre système ou méthode qui puisse apporter un tel degré de sécurité et d'assurance de qualité. Par ailleurs, le coût de fonctionnement quotidien du système HACCP est faible comparé à un programme élaboré d'échantillonnage (Girard, 1999).

D'après le Codex Alimentarius, 1998, les principaux éléments du système HACCP sont:

- A. Identifier les dangers potentiels.
Evaluer la probabilité d'apparition de ces dangers.
- B. Déterminer les Points Critiques pour la maîtrise des dangers (CCP).
Déterminer les étapes à contrôler pour éliminer ou réduire les dangers à leur minimum. Un CCP qui peut maîtriser complètement un danger est appelé CCP₁, tandis qu'un CCP qui réduit au minimum mais qui ne maîtrise pas complètement un danger est appelé CCP₂.
- C. Etablir les limites critiques (tolérances, niveaux cibles) dont le respect atteste de la maîtrise effective des CCP.
- D. Etablir un système de surveillance.
- E. Prévoir les mesures correctives à mettre en œuvre lorsqu'un CCP n'est pas maîtrisé.
- F. Etablir des procédures de vérification.
- G. Etablir un système documentaire et d'enregistrement

Application du système HACCP à la production du poisson frais :

Le point de départ de la conception et de la mise en place de tout programme de qualité consiste à réaliser une définition et une description complètes et correctes du produit. En suite on doit s'assurer que tous les éléments de qualité ont été recensés, afin que toute ambiguïté soit écartée. Quand ce travail est terminé et que les procédures de l'opération ont été étudiées, il est possible d'identifier les dangers à maîtriser.

Quand on a identifié tous les dangers, défauts et points critiques pour leur maîtrise (CCP), on doit établir un système approprié de surveillance et de contrôle à chaque CCP. Ceci comprend :

- a. une description détaillée des mesures de contrôle, la fréquence des contrôles et la désignation des responsables
- b. la fixation des limites critiques pour chaque mesure de contrôle
- c. les enregistrements à tenir pour toutes les actions et observations
- d. la création d'un plan d'actions correctives.

Une description précise et détaillée de tous les CCP est impossible car les situations individuelles et locales peuvent varier. Cependant on a étudié les quelques points généraux suivants:

POISSON VIVANT: avant capture, les dangers sont la présence de biotoxines et la contamination par des produits chimiques et/ou des pathogènes entériques:

- a. les mesures de maîtrise consistent à vérifier l'environnement (zones de pêche) en termes de pollution et de présence de biotoxines. Le gouvernement sera responsable de cette activité dans la plupart des pays et on devra exercer une surveillance régulière
- b. des limites critiques devront être établies par les gouvernements nationaux
- c. les résultats des surveillances devront être publiés périodiquement
- d. l'action corrective consiste à interdire la pêche dans les zones fortement polluées

MANUTENTION DES CAPTURES : les dangers sont le développement des bactéries.

Les mesures de maîtrise comprennent la manutention rapide des captures (temps entre la prise et le glaçage) et un contrôle visuel pour s'assurer que l'équipage suit les procédures prescrites pour éviter une manutention brutale. Le contrôle devra être continu et le patron ou son second sur le pont seront tenus pour responsables

GLAÇAGE : le danger est le développement des bactéries:

- a. les mesures de maîtrise sont l'enregistrement continu des températures, ou le contrôle visuel du glaçage du poisson. Le patron ou le second sont responsables
- b. l'action corrective est la vérification du poisson pour les périodes non maîtrisées, le tri et le rejet du poisson de basse qualité.

REFRIGERATION : le risque est le développement des bactéries (altération)

Les mesures de maîtrise sont l'enregistrement continu des températures dans la chambre froide et les camions frigorifiques, ainsi que la vérification du glaçage du poisson. On doit régulièrement vérifier la précision du thermomètre par rapport à des thermomètres à mercure.

➤ **Réalisation des halles à marée :**

La halle à marée est affectée à la première vente aux enchères, en gros et par lots de tous les produits de la mer provenant de la pêche et de l'aquaculture. Elle a pour objet de faciliter, centraliser et constater tant le débarquement de ces produits que leur vente, d'assurer l'enregistrement des transactions, leur publicité et leur comptabilisation, ainsi que de permettre l'inspection sanitaire.

➤ **Réalisation des laboratoires d'analyses spécialisés dans les produits de la pêche**

- Analyses microbiologiques.
- Analyses parasitaires.
- Analyses physico-chimiques (ABVT, TMA, Histamine....).

➤ **Rédaction d'un guide de bonnes pratiques hygiéniques pour la filière.**

Conclusion

La durée de la conservabilité dans un bon état organoleptique de la sardine (*Sardina pilchardus*), quoique courte, reste suffisante lorsqu'il s'agit d'une pêche de type artisanale (cotière), où le poisson est débarqué après quelques heures de pêche dans le port.

Le glaçage doit être précoce et largement suffisant pour conserver le poisson dans un bon état organoleptique.

La conservation de la sardine (*Sardina pilchardus*) entreposée sous 4 modes (Température ambiante : 16 – 19°C (Hiver), 32 – 35°C (Eté), Réfrigéré et sous glace) est étudiée à travers l'évaluation organoleptique et chimique (teneur en ABVT, TMA).

A température ambiante, la durée de conservation est de 15 heures pour la sardine entreposée entre 16 – 19°C, et 7 heures pour la sardine entreposée à des températures entre 32 – 35°C.

L'étude a montrée aussi que la sardine se conserve réfrigérée (2°C) pendant 5 jours, et sous glace pendant 4 jours.

Le dosage de l'ABVT et de la TMA est également un critère important à étudier, quoiqu'il ne renseigne pas sur les stades précoces de fraîcheur, néanmoins, il reste fiable pour différencier entre un poisson frais et un poisson altéré.

L'évolution de l'altération et la limite d'acceptabilité organoleptique coïncident bien avec les résultats du dosage de l'ABVT et de la TMA.

Le pourcentage de la TMA dans l'ABVT : $P = \text{TMA/ABVT}\%$ est ainsi un critère complémentaire de l'ABVT.

Des fortes corrélations linéaire négatives ont été établies entre l'évolution des paramètres organoleptiques et la teneur en ABVT, TMA quelque soit le mode de conservation étudié, prouvant que ces deux paramètres peuvent être utilisés comme indicateur de l'altération des sardines.

La présente étude a permis également de dégager par l'examen sensoriel, certains caractères organoleptiques, qui semblent être intéressants à retenir pour l'inspection de routine de la sardine:

La tâche rouge de l'opercule n'existe que chez le poisson frais et disparaît chez le poisson altéré, l'odeur des branchies et de la cavité abdominale constituent également un critère potentiel. D'autres caractères sont également importants à retenir : la cornée des yeux et l'adhérence de la colonne vertébrale à la chair.

Les paramètres chimiques de l'altération étudiés concernant l'ABVT et la TMA constituent des indices appropriés pour l'appréciation de l'altération et des valeurs limites sont proposées pour ces deux indices.

Enfin, les attentes grandissantes des consommateurs vis-à-vis de la qualité des produits de la pêche doivent faire réfléchir les autorités et les professionnels de la filière pêche sur la nécessité de mettre en place des démarches qualité fondées sur une analyse au préalable des risques et des points de contrôle pour leurs maîtrise. Ces efforts ne doivent pas répondre uniquement aux obligations réglementaires, mais aussi aboutir à la mise sur le marché de produits sains, frais, et de grande qualité. C'est à cette condition que les entreprises algériennes pourront être compétitives au niveau international, ce type de démarche qualité étant déjà intégré au sein de toute la filière dans certains pays.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Ababouch, L., Afilal, M.E., Benabdeljelil, H. et Busta, F.F. (1991). Quantitative changes in bacteria, amino acids and biogenic amines (*sardina pilchardus*) stored at ambient temperature (25-28°C) and in ice. *International Journal of Food Science and Technology*, **26**, 297-306

Ababouch, L.H., Afilal, M.E., Rhafiri, S., Busta, F.F. (1992). Identification of histamine-producing bacteria isolated from sardine (*Sardina pilchardus*) stored in ice and at ambient temperature (25° C). *Food Microbial*, **8**, 127-136.

Ababouch, L.H., Souibri, L., Rhaliby, K., Ouadhi, O., Battal, M. et Busta, FF. (1996). Quality changes in sardine (*Sardina pilchardus*) stored in ice and at ambient temperatures. *Food Microbiology*, **13**, 123-132.

Ackman, R.G.(1988). Concerns for utilization of marine, lipids and oils food technology. Lancaster, Surrey, Mai 1988. 151-155.

Andries, S. (2002). La qualité du poisson frais : Méthodes d'évaluation et utilisation de la méthode HACCP au stade d'une criée. Thèse pour le diplôme d'état de docteur vétérinaire : Faculté de médecine de Nantes. 127 p.

ANONYME: Council Regulation N°. 103/76 freshness ratings, *Journal officiel des Communautés Européennes*, 1976, N° L 20 du 18 janvier 1976.

Arrêté interministériel du 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires : critères microbiologiques des poissons et des produits de la pêche, p. 7. (JORA : 035 du 27 mai 1998)

Bennour, M., El Marrakchi, A., Bouchriti, N., Hamama, A., El Oudaa, M. (1991). Chemical and microbiological assessments of mackerel (*Scomber scombrus*) stored in ice. *Journal of Food Protection*, **54**, 789-792.

Bennour, M., El Marrakchi, A., Hasnaoui, H., Amir, M., Ayoubi, K. (1994). Effet du glaçage associé au salage sur la conservabilité de la sardine (*Sardina pilchardus*) et du maquereau (*Scomber scombrus*). In : *Contribution du froid à la préservation de la qualité des fruits, légumes et produits halieutiques*. « Actes du Symposium de l'Institut International du Froid », Actes Editions. IAV Hassan II. Rabat, Maroc.

Berna, K., Sukran, C. et Sebrnem T. (2008). Qualité changes of sardine (*Sardina pilchardus*) patties during refrigerated storage. *Journal of Food Quality*, **31**, 366-381.

Chaouqy, N. E. et El Marrakchi, A. (2005). Aspects chimiques et bactériologiques de l'anchois (*Engraulis encrasicolus*) entreposé sous glace et à moyenne température (20-25°C). *Médecine vétérinaire*, **156**, 6, 341-349.

Chinivasagam, H. N., Bremner, H.A., Thrower, S. J., Nottingham, S.M. (1996). Spoilage pattern of fives species of Australian prawns: Deterioration is Influenced by Environnement of Capture and Mode of Storage. . *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **5**, 25-50.

CODEX ALIMENTARIUS, (1998). Avant –projet de codes d’usages CODES pour les poissons et les produits de la pêche. 23^e session du comité du CODEX ALIMENTARIUS sur les produits de la pêche, Bergen, 8-12 Juin 1998.

CNERNA-CNRS, (1996). Commission « Evaluation de la Qualité microbiologique des aliments »: Poissons, produits de la pêche et dérivés. **In** : *La qualité microbiologique des Aliments, Maîtrise et critères*, 2^e ed., Polytechnica (Ed.), Paris, 446-468.

Communauté européenne (1993). Décision de la commission du 19 janvier 1993 fixant les modalités du contrôle visuel de la recherche des parasites dans les produits de la pêche (93/140/CEE). *Journal officiel des Communautés Européennes*, L.56 du 9 mars 1993 : 42.

Communauté européenne (1993). Décision de la commission du 19 Mai 1993 fixant des méthodes d’analyse, des plans d’échantillonnage et des niveaux à respecter pour le Mercure dans les produits de la pêche (93/351/CEE). *Journal Officiel des Communautés Européennes*, L.144 du 16 Juin 1993 : 23-24.

Communauté européenne (1991). Directive du conseil du 22 juillet 1991 fixant les règles sanitaires régissant la production et la mise sur le marché des produits de la pêche (91/493/CEE). *Journal Officiel Des Communautés Européennes*, L. 268 du 24 Septembre 1991 : 15-34.

Communauté européenne(1996). Règlement (CEE n° 2406/96) du conseil du 26 novembre 1996 fixant des normes communes de commercialisation pour certains produits de la pêche. *Journal Officiel des Communautés Européennes*, L. 334 du 23 Décembre 1996 : 1-15.

Communauté européenne(2004). Règlement (CEE n° 854/2004) du conseil du 29 Avril 2004 fixant les règles spécifiques d’organisation des contrôles officiels concernant les produits d’origine animale destinés à la consommation humaine. *Journal Officiel des Communautés Européennes*, L. 226 du 25 Juin 2004 : 8-12.

Communauté européenne (2005). Règlement (CE) N° 2073/2005 du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires. *Journal Officiel Des Communautés Européennes*. L. 338/1, 25 p.

Communauté européenne(2005). Règlement (CEE n° 2074/2005) du conseil du 5 Décembre 2005 fixant les valeurs limites en Azote Basique Volatil Total (ABVT) pour certaines catégories de produits de la pêche et méthodes d’analyse à utiliser. *Journal Officiel des Communautés Européennes*, L. 338 du 22 Décembre 2005 : 10-13.

CVPM (Centre technique spécialisé des produits de la pêche) (2006). Aide-mémoire pour l’interprétation des résultats d’analyses des produits de la pêche et d’aquaculture. Fiche technique n° 13. Boulogne- sur- mer. 10 p.

Daalgaard, P., Huss, H.H.(1997). Mathematical modelling used for evaluation and prediction of microbial fish spoilage. **In** : *Seafood Safety, Processing and biotechnology*. Shahidi F., Jones Y., Kitts D.D. eds. Technomic, Basel, 73-87.

- Duflos, G., Dervin, C., Malle, P. et Bouquelet, S. (1999). Use of biogenic Amines to evaluate Spoilage in Plaice (*Pleuronectes platessa*) and Whiting (*Merlangus merlangus*). *Journal of AOAC International*. **82**, 1357-1363
- Ehira, N et Uchiyama, H.(1986). Determination of fish freshness using K value and comments on some other biochemical changes in relation to freshness. **In** : *Seafood Quality Determination*. Kramer D.E. and Liston J.C., eds, Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam, 185-207
- El Marrakchi, A., Azlaf, R., Barhoumi, M.(1982). Quelques aspects bactériologiques de la sardine (*Sardina pilchardus*) récemment capturée et conservée aux températures de la réfrigération. Consultation d'expert de la FAO sur la technologie du poisson en Afrique. Casablanca, Maroc, FAO. Rapport des Pêches, N° **268**, 45-53.
- El Marrakchi, A., Bennour, M., Hamama, A., El Khaidar, S. (1994). Bactéries actives dans l'altération de la sardine (*Sardina pilchardus*) entreposée sous glace (0°C) et à température ambiante (25°C). **In** : *Contribution du froid à la préservation de la qualité des fruits, légumes et produits halieutiques*. « Actes du Symposium de l'Institut International du Froid », Actes Editions. IAV Hassan II. Rabat, Maroc.
- El Marrakchi, A.E., Bennour, M., Bouchriti, N., Hamama, A. et Tagafatit, H. (1990). Sensory, chemical and microbiological assessments of Moroccan sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice. *Journal of Food Protection*, **53**, 600-605.
- Etienne, M. (1998). l'ABVT, L'Histamine. Nantes : Laboratoire qualité et physico-chimie IFREMER, 2 p.
- Gram L., Leisner J.J.(1999). Spoilage of fish. **In** : *Encyclopedia of food microbiology*. Academic press, 813-821.
- Granroth, B. (1978). Exopeptidases in Baltic herring. *Finn. Chem. Lett.*, 108-111.
- Gibson, D.M et Ogden, I.D (1997). Total viable counts. **In** : *Methods to determine the freshness of fish in research and industry*. Proceedings of the final Meeting of the Concerted Action " Evaluation of fish freshness" AIR3CT94 2283, Nantes (FR.), p 147-150.
- Girard, P.(1999) ; Santé et consommation de poisson. *La Semaine Vétérinaire*, **933** , P 36
- Gökoğlu, N., Özden, Ö. Et Erkan, N. (1998). Physical, chemical and sensory analyses of freshly harvested sardines (*Sardina pilchardus*) stored at 4°C. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **7**, 5-15.
- Gökoğlu, N., et Yerlikaya, P. (2004). Use of eye fluid refractive index sardine (*Sardina pilchardus*) as a freshness indicator. *European Food Research and Technology*, **218**, 295-297.
- Henehan, G. (1997). Adenine nucleotides and their metabolites as determinants of fish freshness. **In** : *Methods to determine the freshness of fish in research and industry. Proceedings of the final Meeting of the Concerted Action « Evaluation of fish freshness » AIR3CT94 2283*. Paris : Institut International du Froid , 266-270

Hultin, H.O.(1992). Biochemical deterioration of fish muscle. **In** : *Quality Assurance in the Fish Industry*. Huss, H.H., Jakobsen, M., Liston, J. Eds. Elsevier Science publication, 1992, 125-137.

Huss, H.H.(1994). Assurance de qualité des produits de la mer. *Document technique sur les Pêches FAO* N° 334. 50-51, 56, 93.

Huss, H. (1994). Assurance of Seafood Quality. *FAO Fisheries Technical Paper No. 334*. FAO. Rome.

Huss, H.H.(1988). Fresh fish-quality and Quality Changes. *FAO Fisheries Technological papers*. N° 29. Rome, FAO, 15-16, 23, 57.

Huss, H.H.(1972). Storage life prepacked wet fish at 0°C. 1. Plaice and haddock. *Journal of Food Technology*, 7 : 13-19.

Hyldig, G. et Nielsen, J.A(1997). Rapid sensory method for quality management. **In** : *Methods to determine the freshness of fish in research and industry*. Proceedings of the final Meeting of the concerted Action "Evaluation of fish freshness" AIR3CT94 2283. Nantes (FR), 297-305.

Ingolfssdottir, S.(1997). Post-mortem changes in fish muscle proteins structural changes. **In** : *Methods to determine the freshness of fish in research and industry*. Proceedings of the final Meeting of the concerted Action "Evaluation of fish freshness" AIR.CT94 2283. Nantes (FR), 198-203.

Irineu, B., Cristina, R., Rita, M., et Maria, L.N. (2009). Enzymatic hydrolysis of sardine(*Sardina pilchardus*) by-products and lipid recovery. *Journal of Aquatic Food Product Technology*,**18**, 120-134.

ITSV (2001). Les produits de la pêche, Paris : ITSV, 15 p.

Jason, A.C., Richards, J.C.S.(1975). The development of an electronic fish freshness meter. *Journal of Physic E*, **8**, 826-830.

Jensen, M.H.(1980). Storage of chilled cod under vacuum and at various concentrations of carbon dioxide. **In** : *Advances in fish science and technology*, éd. J.J. Connel. Fanham, Surrey, Royaume-Uni, Fishing News (Books) Ltd. P294-297.

Jouve, J.L. (1996). La qualité microbiologique des aliments : Maîtrise et critère. Paris : Ed Polytechnica, 446-468

Khayat et Shwall (1983). Lipid oxidation in seafood. *Food technology*, 130-140.

Kjosbakken, J. et Larsen, H. (1974). Bakteriell dekomponering av fisk I bulk. 1. Isolasjon av anaerobe ammoniak-producerende bakterier, Inst. Technical Biochmistery, NTH, Univ. of Trondheim, Nornége. P.37.

- Kjosbakken, J., Storro, I. et Larsen, H. (1983). Bacteria decomposing aminoacids in bulk-stored capelin (*Mallotus villosus*) . *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, **40**, 2092-2097
- Klausen, N.K. et. Huss,H.H.(1987). Growth and histamine production by *Morganella morganii* undr various temperature conditions. *Inemational Journal of Food Microbiology*. **5**, 147-156.
- Lawrie, R.A.(1974). The eating quality of meat. *Meat Science*. 2nd edition. Pergamon Press, Oxford, 286-342.
- Love, R.M.(1970). The chemical biology of fishes. *Academic Press*, p.547.
- Malle, P., Poumeyrol, M. (1989). A new chemical for the quality control of fish: Trimethylamine/Total Volatil Basic Nitrogen (%).*Journal of Food Protection*, **52**, 419-423.
- Malle, P. et TAO, S. H. (1987). Rapid quantitative determination of trimethylamine using steam distillation. *Journal of Food Protection*, **50**, 756-760.
- Malle, P. Vanelle, A.M. et Petit, A. (1989). Teneur en azote basique volatil total du tissu musculaire des poissons marins. Eléments pour une normalisation de la détermination, de l'expression et de l'exploitation de l'ABVT. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, **165**, 395-402
- Mossel, D.A.A.(1967). Ecological Principe's and methodological aspects of the examination of foods and feeds for indicator microorganisme . *Journal of the Association Agricultural Chemistry*, **50**, 91-104.
- M.P.R.H. (2006). Les statistiques des pêches 2000-2005. Ministère de la Pêche et des Ressources Halieutiques. Route des quatre canons, Alger, 34p.
- Murray C.K. et Fletcher T.C.(1976).The immunogisto-chemical localization of lysozyme in plaice (pleuronectes platessa) tissues. *Journal of fish Biology*, **9**, 329-334.
- Nazir D.J et Magar N.G.(1963). Biochemical changes in fidh muscle during rigor mortis. *Journal of Food Science* , **28** , 327-331.
- Nunes, M.L., Batista, I., Morao de Campos, R (1992). Physical, chemical and sensory analysis of sardine (*Sardina pilcharus*) stored in ice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **5**, 37-43
- Nuray E et ÖzKan Ö (2008). Quality assessment and gutted sardines (*Sardina pilcharus*) stored in ice. *Intenational Journal of Food and Technology*, **43**, 1549-1559.
- Oehlenschager, J. et Nesvadba, P. (1997). Methods for freshness measurement based on electrical properties of fish tissue. **In** : *Methods to determine the freshness of fish in research and industry*. Proceedings of the final Meeting of the Concerted Action « Evaluation of fish freshness » AIR3CT94 2283. Nantes (FR), Paris : Institut International du Froid, 363-368.
- Olafsdottir, G. (1997) . Rapid gaz sensor measurements to predict the freshness of caplin (mallotus villosus). *Journal of agricultural and food chemistry*, **45**, 2654-2659

- Olafsdottir, G. et Fleurence, J. (1997). Evaluation of fish freshness using volatile compounds- Classification of volatile compounds in fish. **In** : *Methods to determine the freshness of fish in research and industry*. Proceedings of the final Meeting of the Concerted Action « Evaluation of fish freshness » AIR3CT94 2283. Nantes (FR), Paris : Institut International du Froid, 55-69
- Park, Y. H., Kim, D.S., Kim, S.S. et Kim S. B. (1980). Changes in histamine content in the muscle of dark-fleshed during storage and processing. Changes in histamine in common marckerel, shard and sardine. Bull. Kor. Soc., **13**, 15-22
- Partman, W.(1965). Some experience concerning super chilling of fish. *Bulletin of the International Institute of Refrigeration*. Annexe, 5 p.328.
- PDM (2008). *The European seafood magazine* Avril- Mai 2008. **108**, 139-140, 13 rue du Breil, CS 46305, 35063 Rennes cedex, 154p.
- Regenstein, L.M.(1981). The shelf-life Extension of fresh fish. *Proceedings of the international Institute of Refrigeration*, Boston, p. 357-364.
- Sadok, S (1996) Determination of trimethylamine oxide in seawater and small volume of seafood tissue using flow injection analysis. *Analysis Chemical Actuality*, **334**, 279-285
- Sainclivier, M. (1983). L'industrie alimentaire halieutique. Première partie : Le poisson matière première, Rennes : ENSA, 263 p.
- Schubring, R., Oeglenschlager, J.(1996). Bewertung der Farbe von frischen und tiefgefroenen Raucherlacheriten mittels objektiver Farbmessung. *Inf. Fischwirtsch.*, **43**, 81-84.
- Shewan, J.M. (1962). The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes. **In**: J. Hawthorn et J. Muil Leitch (eds.), *Recent advances in food science*, **1**, 167-193.
- Shewan, J.M. (1977). The bacteriology of fresh and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial action. **In**: *Proceedings of the Conference on Handling, Processing and Marketing of Tropical Fish.*, Tropical Products Institute, London, 51-66.
- Shewan J.M et Murray C.K.(1979). The microbial spoilage of fish with special reference to the role of psychrophiles. **In** : Cold-tolerant microbes in spoilage and the environnement, p117, éd. A.D. Russell R. Fuller. Londress, Academic press.
- Signeres, F.(1997). Assessment of fish freshness by VIS/NIR spectroscopy. **In** : *Methods to determine the freshness of fish in research and industry*. Proceedings of the final Meeting of the concerted Action “Avaluation of fish freshness” AIR3CT91 2283. Nantes (FR) , 369-375.
- Sikorski, Z.E., Kolakowska, A. et Burt, J.R. (1990). Post harvest biochemical and microbial changes seafood. **In**: *Resources Nutritional Composition and Preservation* (edited by Zdzislaw E. Sikorski). Pp. 55-75. Boca Raton Florida: CRC Press-Inc.

Siliker, J.H. et Gabis, D.A.(1976). ICMSF method studies VII. Indicator tests as substitutes for direct testing of dried foods and feeds for Salmonella. *Canadian journal of Microbiology*, **22**, 971-974.

Slatter J. et Lorentz, W.(1990). Intestinal diamine oxidases and enteral-induced histaminosis : studies of three prognostic variables in an epidemiological model. *Journal of Neural Transmission supplement*, **32**, 291-314.

Smelt, A.J. (1997). optimization of a multigas-sensor system, training of the artificial neural network and use of the electronic nose system for quality assessment of whiting. **In** : *Methods to determine the freshness of fish in research and industry*. Proceedings of the final Meeting of the Concerted Action « Evaluation of fish freshness » AIR3CT94 2283. Nantes (FR), 110-119.

Stede, M., et Stockemer, J. (1981). Bildung von histamine in fischen heringen and makrelen. *Fleischwirtschaft*, **61**, 1746-1749.

Stroud G.D. (1969). Rigor in fish : the effect on quality. Torry Advis. Note, Aberdeen, 36p.

Taylor, S.L. (1986). Histamine food poisoning : Toxicology and clinicl aspects. *CRC Critical reviews in toxicology*, **17**, 91-128

Undeland, I.(1997). Lipid oxidation in fish-causes, changes and measurements. **In** : *Methods to determine the freshness of fish in research and industry*. Proceedings of the final Meeting of the concerted Action, "Evaluation of fish freshness AIR3CT94 2283. Nantes, 243-251.

Watanabe, E. (1993). Measuring and controlling seafood quality in Japan. Quality control and quality assurance for sea food. **In** : *Conference proceedings : The Pacific Northwest Seafood Association*, Newport, Oregon, May 16-18, 125-132

Zarrouk, K. F. et Maurin, R. (1986). Etude d'une huile de sardine du Maroc (*Sardina pilchardus*). *Actes Institut Agronomique et Vétérinaire*, **6**, 5-14.

Zhang, Y., Lu, H. et Levin, R.E. (2003). Enhanced storage- life of fresh haddock fillets with stabilised sodium chlorite in ice. *Food Microbiology*, **20**, 87-90.

ANNEXES

ANNEXE 1 :**FICHE DE RESULTATS D'ANALYSES ORGANOLEPTIQUES**

Description de l'échantillon						
Origine :			Nature :			
n° de lot :		n° de l'échantillon :		Date :		Heure :
Date de réception :			Heure de réception :			
Date de l'analyse :			Mode de conservation :			
Responsable de l'analyse :			Heure de l'analyse :			
CRITERES	EVALUATION				MOYENNE DU CRITERE	OBSERVATIONS
Peau	E=3	A=1	B=1	Na=0		
Pigmentation Ventrale / dorsale Mucus cutané						
Consistance de la chair	E=3	A=1	B=1	Na=0		
Œil	E=3	A=1	B=1	Na=0		
Convexité Pupille Cornée						
Opercule	E=3	A=1	B=1	Na=0		
Coloration Mucus						
Branchies	E=3	A=1	B=1	Na=0		
Couleur Mucus						
Odeur des branchies	E=3	A=1	B=1	Na=0		
Chair	E=3	A=1	B=1	Na=0		
Texture Surface Ecaille						
SYNTHESE DES RESULTATS						
Cotation de fraîcheur (CF)				Observations		
Entre 3 et 2,7 =	E			E (extra), A (bon), B 'acceptable), Na (rejet)		
Entre 2,7 et 2 =	A					
Entre 2 et 1 =	B					
Entre 1 et nul =	Na					

ANNEXE 2 :

Barème de cotation de fraîcheur européen des poissons bleus : (CEE n°2406/96)

Caractères observés sur le poisson	Extra	A	B	Non admis
Peau (2)	Pigmentation vive, couleurs brillantes et iridescentes. Nette différence entre surface dorsale et ventrale	Perte d'éclat et de brillance. Couleurs plus fades. Moins de différence entre surface dorsale et ventrale.	Ternie, sans éclat. Couleurs délavées. Peau plissée lorsqu'on courbe le poisson	Pigmentation très terne. Peau se détache de la chair (1)
Mucus cutané	Aqueux, transparent.	Légèrement trouble.	Laiteux.	Gris, jaunâtre, opaque (1)
Œil	Convexe. Pupille bleue-noir, brillante. Paupière transparente	Convexe et légèrement affaissé. Pupille enfoncée. Cornée légèrement opalescente	Plat. Pupille voilée. Extravasations sanguines autour de l'œil.	Concave au centre. Pupille grise. Cornée laiteuse (1)
Branchies (2)	Rouge vif à pourpre uniformément. Pas de mucus.	Couleur moins vive, plus pâle sur les bords. Mucus transparent	S'épaississant, se décolorant. Mucus opaque.	Jaunâtre. Mucus laiteux (1)
Consistance de la chair (2)	Très ferme, rigide.	Assez rigide, ferme.	Un peu molle.	Molle (flasque) (1)
Opercules	Argentés.	Argentés, légèrement teinté de rouge ou de brun.	Brunissement et extravasations sanguines étendues.	Jaunâtre. (1)
Odeur des branchies	D'algues marines fraîche. Acre, iodée	Absence d'odeur ou odeur d'algues marines. Odeur neutre.	Odeur grasse(3) un peu sulfureuse, de lard rance ou de fruit pourri.	Odeur aigre de putréfaction(1)

(1) Ou dans un état de décomposition avancé.

(2) Pour le hareng et le maquereau en eau de mer réfrigérée les critères de la colonne A s'appliquent aussi à la catégorie Extra.

(3) Le poisson conservé dans la glace a une odeur rance avant d'avoir une odeur défraîchie ; c'est l'inverse pour le poisson en eau de mer réfrigérée.

ANNEXE 3 :

Valeurs limites en Azote Basique Volatil Total (ABVT) pour certaines catégories de produits de la pêche.

Le règlement (CE) n° 854/2004 (qui fixe les règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale) prévoit des dosages d'ABVT et de TMA pour les produits de la pêche non transformés.

Des valeurs limites ont été définies dans le règlement (CE) n° 2074/2005 :

- **25 mg azote/100g** : Sébastes, *Helicolenus dactylopterus* (Rascasse du Nord), *Sebastichthys capensis* (Sébaste du Cap).
- **30 mg azote/100g** : espèce de la famille des Pleuronectidés (à l'exception du flétan)
Exemples de Pleuronectidés : plie cynoglosse, limandes, limandes-soles, Flets, plies, camardes.
- **35 mg azote/100g** : Saumon atlantique (*Salmo salar*), espèces appartenant à la famille des Merluciidés (merlus), espèces appartenant à la famille des Gadidés (cabillaud, merlans, églefin).

Ces taux élevés **correspondent à des critères de retrait** de la consommation. Ils ne **doivent donc pas être retenus pour l'établissement de cahiers des charges**, servant de référence de qualité pour des transactions commerciales.

RESUME

RESUME

L'étude de la qualité de la sardine fraîche (*Sardina pilchardus*) a porté sur 8 lots entreposés sous 4 modes de conservation : Température ambiante : 16 – 19°C (Hiver), 32 – 35°C (Eté), Réfrigéré(2°C) et sous glace (0 – 5°C).

L'appréciation organoleptique a permis de définir les temps de rejet organoleptique et la durée de conservation de la sardine :

A température ambiante, la durée de conservation est de 15 heures pour la sardine entreposée entre 16 – 19°C, et 7 heures pour la sardine entreposée à des températures entre 32 – 35°C.

L'étude a montrée aussi que La sardine se conserve réfrigérée (2°C) pendant 5 jours, et sous glace (0 – 5°C) pendant 4 jours. Certains caractères organoleptiques d'altération propres à la sardine sont définis.

Le suivi chimique montre que les paramètres Azote Basique Volatil Total (ABVT) et triméthylamine (TMA) constituent des indices appropriés pour l'évaluation de l'altération de la sardine et des normes de contrôle sont proposées.

L'évolution de l'altération et la limite d'acceptabilité organoleptique coïncident bien avec les résultats du dosage de l'ABVT et de la TMA.

Le pourcentage de la TMA dans l'ABVT : $P = \text{TMA/ABVT}\%$ est ainsi un critère complémentaire de l'ABVT.

Des fortes corrélations linéaire négatives ont été établies entre l'évolution des paramètres organoleptiques (cotations organoleptiques) et la teneur en ABVT, TMA quelque soit le mode de conservation étudié, prouvant que ces deux paramètres peuvent être utilisés comme indicateur de l'altération des sardines.

Quelque soit la méthode utilisée pour apprécier l'état de fraîcheur de la sardine, il est recommandé d'en confirmer les résultats par une évaluation sensorielle.

Mots- clés : Sardine, Conservation, Analyse sensorielle, Analyse chimique

SUMMARY

The study of the quality of fresh sardine (*Sardina pilchardus*) related to 8 lots stored under 4 modes of preservation: Ambient temperature: 16 – 19°C (Winter), 32 – 35°C (Summer), Cooled(2°C) and under ice (0 – 5°C).

The organoleptic appreciation made it possible to define organoleptic times of rejection and the shelf life of sardine:

With ambient temperature, the shelf life is 15 hours for sardine stored between 16 – 19°C, and 7 hours for sardine stored at temperatures between 32 – 35°C.

The study also showed that the sardine preserves itself cooled (2°C) during 5 days, and under ice (0 – 5°C) during 4 days. Certain organoleptic characters of deterioration specific to sardine are defined.

The chemical follow-up shows that the Total volatile basic nitrogen parameters (TVBN) and trimethylamine (TMA) constitute suitable indices for the evaluation of the spoilage of sardine and of the standards of control are proposed.

The evolution of deterioration and the organoleptic limit of acceptability coincide well with the results of the proportioning of the TVBN and the TMA.

Percentage of the TMA in the ABVT: $P = \text{TMA/TVBN}\%$ is thus a criterion complementary to the TVBN.

Strong correlations linear negative were established between the evolution of the organoleptic parameters (organoleptic quotations) and the content of TVBN, TMA some is the studied mode of conservation, proving that these two parameters can be used as indicator of the deterioration of sardines.

Some is the method used to appreciate the state of freshness of sardine, it is recommended to confirm the results by a sensory evaluation of them.

Key words Sardine, preservation, analyze sensory, analyzes chemical

ملخص:

إن دراسة نوعية سمك السردين الطازج (*Sardina pilchardus*) التي قمنا بها على مستوى 8 مجموعات محفوظة على 4 طرق:

- درجة حرارة مؤوية بين 16 و 19 (فصل الشتاء)، و درجة حرارة مؤوية بين 32 و 35 (فصل الصيف) و درجة حرارة البرودة (2°) و كذا السردين المتلج (0 - 5°) .

- إن التحليل الحسي لهذه المجموعات سمح لنا بتحديد الوقت الذي يصبح فيه سمك السردين غير صالح للإستهلاك و سمح لنا بتحديد مدة صلاحية سمك السردين في درجة حرارة مؤوية بين 16 و 19 مدة صلاحية السردين هي 15 ساعة و 7 ساعات في درجة مؤوية ما بين 32 و 35، بينما صلاحية السمك الموضوع في درجة حرارة المبرد (الثلاجة) هي 5 أيام و السمك المتلج 4 أيام.

- الدراسة أوضحت أيضا بعض خصائص فساد السردين و عدم صلاحية إستهلاكه.

- التحليل و المتابعة الكيميائية أوضحت أيضا أن الأزوت القاعدي المتبخر الكامل (ABVT) و ثلاثي مثيل أمين (TMA) يمثلان مؤشرات مهمة لتقدير درجة فساد السردين، و قد إقترحنا معايير و نسب خاصة للمراقبة.

- نسبة TMA في ABVT: $P = TMA/ABVT$ هي أيضا خاصية مهمة و مكتملة لـ ABVT .

- الدراسة أوضحت أيضا أن هناك علاقة ترابط خطية سالبة قوية بين تطور الخصائص الحسية (النقاط الحسية) و تطور إحتواء السردين على ABVT و TMA مهما كانت طرق الحفظ المدروسة مما يبين أن هذين العاملين يمكن إستعمالهما كمؤشرات على فساد السردين.

- مهما تكن الطريقة المستعملة من أجل تقييم درجة نوعية و طزاجة سمك السردين فإننا نوصي بإثبات النتائج عن طريق التحليل الحسي.

الكلمات الأساسية: السردين، الحفظ، التحليل الحسي، التحليل الكيميائي.