

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

«O»

وزارة التعليم العالي
Ministère de l'Enseignement Supérieur

»O«

INSTITUT DES SCIENCES DE LA MER
ET DE L'AMENAGEMENT DU LITTORAL

»O«

MEMOIRE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
D'INGENIEUR D'ETAT EN HALIEUTIQUE

»O«

THEME

ETUDE DE L'EVOLUTION DE LA QUALITE
PROTIDIQUE ET MICROBIOLOGIQUE DE LA
SARDINE ET DU PAGEAU EN FONCTION
DE LA TEMPERATURE ET LA DUREE DE
CONSERVATION

Soutenu le 06 Novembre 1988 par :

BENDJEDDOU Ahmed
BOULARAK Zidane

Devant le jury d'examen :

Mr A. CHOUIKHI	Président
Mlle T. BENMALEK	Rapporteur
Mr A. CHALABI	Examineur
Mr MERIOUMA	Examineur

NOS PARENTS,

NOS FRERES ET SOEURS,

NOS AMI(ES) ET COLLEGUES,

NOS PROCHES.

"Ahmed et Zidane"

/ R E M E R C I E M E N T S /
=====

Nous remercions vivement Mr. A. CHUIKHI, Directeur de l'ISMAL d'avoir bien voulu présider ce jury de mémoire.

Nous exprimons notre gratitude à M^{lle}. T. BENMALEK, pour nous avoir aidée à mener à bien ce travail.

Nous remercions profondément Mrs. A. CHALABI et MERIOUMA, de bien vouloir examiner ce mémoire.

Il nous est agréable d'exprimer notre reconnaissance à M^{me}. MERZOUG et M^{lle}. BOUHANK pour leur précieuse aide au sein du laboratoire de microbiologie.

Nous remercions sincèrement le personnel du laboratoire de botanique et celui du C.R.B.T. en particulier Mrs. AZZEDINE et LARBI pour leur aide.

Mrs. ASSELAH et BOUKERKEB ont assuré avec compétence et patience la frappe de ce mémoire. Nous leur exprimons nos vifs remerciements.

Nous remercions également le personnel de l'Institut des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral.

S O M M A I R E

<u>I</u> INTRODUCTION	I
-----------------------------	---

PREMIERE PARTIE : "GENERALITES"

I - LE POISSON EN TANT QUE MATIERE PREMIERE

1. <u>LA PRODUCTION DES POISSON EN ALGERIE</u>	3
2. <u>LA CONSOMMATION DES POISSON EN ALGERIE</u>	3
3. <u>ETUDE DU POISSON</u>	
3.1. Généralités sur le poisson.	
3.1.1. Morphologie et classification.....	3
3.1.2. Anatomie et physiologie	5
3.2. Les constituants chimiques de la chair du poisson	
3.2.1. L'eau.....	7
3.2.2. Les matières azotées.....	8.
3.2.3. Les matières grasses.....	9
3.2.4. Les glucides	10
3.2.5. Les matières minérales	10
3.2.6. LES vitamines	10
3.3. Les causes d'altération du poisson.	
3.3.1. Action enzymatique	12
3.3.2. Action chimique	13
3.3.3. Action bactérienne	13

II - LA CONSERVATION PAR LE FROID

1. <u>IMPORTANCE DU FROID</u>	
1.1. Importance économique	16
1.2. Importance hygiénique	16

2. MODALITES D'APPLICATION DU FROID

- 2.1. La réfrigération.....16
- 2.2. La congélation17

3. ACTION DU FROID

- 3.1. Action de réfrigération17
- 3.2. Action de la congélation18
 - 3.2.1. Modifications des propriétés chimiques et biochimiques du poisson.
 - 3.2.1.1. Dénaturation des protéines17
 - 3.2.1.1.1 Les facteurs de dénaturation.17
 - 3.2.1.1.2. Influence des sur les protéines...19
 - 3.2.1.1.3. Les conséquences de la dénaturation.19
 - 3.2.1.2. Modification des lipides.....20
 - 3.2.1.3. Modification de la couleur20
 - 3.2.1.4. Modification de la texture21
 - 3.2.2. Action sur les micro-organismes21
 - 3.2.2.1. Choc thermique.....21
 - 3.2.2.2. Formation du glace.....22
 - 3.2.2.3. Concentration en solutés.....22

DEUXIEME PARTIE : "ETUDE EXPERIMENTALE "

I - MATERIELS ET METHODES

- 1. CHOIX DES ESPECES24
- 2. ECHANTILLONNAGE
 - 2.1. Prélèvement.....25
 - 2.2. Transport des échantillons25
 - 2.3. Conservation des échantillons.....25

1. ETAT DE FRAICHEUR	38
2. ETUDE PHYSICOCHIMIQUE.....	44
3. ETUDE MICROBIOLOGIQUE	72
<u>III</u> & <u>CONCLUSION</u>	95
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	97
<u>ANNEXES</u>	99

INTRODUCTION

INTRODUCTION / :

L'ALGERIE est pourvue d'une façade maritime qui s'étend sur 1 200 km de côtes sur laquelle recèle des ressources halieutiques non négligeable. Les ressources pélagiques ont été estimée à 191 468 tonnes, et les ressources démersales de 10 000 à 15 000 tonnes lors de la campagne Thalassa en OCTOBRE 1982 (Ministère de l'hydrolique, des forêts et des pêches).

En se référant à la consommation moyenne des poissons qui est de 13 kg/an/habitant dans le bassin méditerranéen, nous pouvons affirmer que l'Algérien moyen ne consomme que très peu de poissons (4,5 kg/an/habitant selon le Ministère de l'Hydrolique, des Forêts et des Pêches).

Dans le cadre du développement du secteur de la pêche et conscient du rôle qui devrait jouer le poisson dans l'économie alimentaire, et dans la sauvegarde et développement du cheptel ovin et bovin, le Gouvernement a triplé la production du poisson qui est passée de 22 571 tonnes en 1971 à 90 000 tonnes (dont 10 000 tonnes importées de la MAURITANIE) en 1986.

Les poissons représentent une source de protéines de haute valeur biologique aussi importante que la viande, car celle-ci (protéines) assurent la vie de l'homme, c'est à dire une bonne croissance et le parfait entretien en comptant le rôle des sucres et lipides qui sont destinés essentiellement à assurer le fonctionnement de l'organisme (source d'énergie).

" Pas de vie sans protéines ". Elles sont un élément essentiel de l'alimentation humaine et animale. Elle permettent l'édification, la répartition et le renouvellement des cellules (J.J.ROGER, 1980).

L'extension des circuits de vente impliquent des délais plus longs entre la production et la consommation de ces produits très dégradable ; nécessite un mode de conservation modifiant le moins possible l'aspect et les qualités jusqu'à

...../.....

leur consommation.

Parmi toutes les techniques connues jusqu'ici, qui amoindrit l'autodégradation et la détérioration provoquée par la flore bactérienne initiale, c'est la conservation par le froid.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail qui a pour but de suivre l'évolution de la qualité protidique et microbiologique des poissons (sardine et pageau) en fonction de la conservation à l'état réfrigéré à (+ 4°C) et à l'état congelé à deux températures différentes (- 10 et 18°C) pendant une durée de 60 jours.

COMPOSE	EAU (G)	PROTEINES (G)	GLUCIDES (G)	CA (mg)	Fe (mg)	VITA (mg)	THIA (mg)	RIB (mg)	NIA (mg)
BOUEF	70	19,0	14,0	-	11,2	4,0	0,04	0,07	0,18
POISSON	80	19,6	10,0	-	41,1	2,4	0,06	0,15	2,8
POULET	70	19,0	7,0	-	12,1	5,3	0,1	0,16	-

TABLEAU 1 / :

La composition d'un poisson comparée avec le poulet et bouef (R. Passmore et coll, 1974).

PREMIERE PARTIE

RAPPORT

BIBLIOGRAPHIQUE

(GENERALITES)

I - GENERALITES / :

1 - LE POISSON EN/TANT QUE MATIERE PREMIERE / :

1.- LA PRODUCTION DES POISSONS EN ALGERIE / :

La production n'a pas cessée d'augmenter d'une année à l'autre (tableau 2). Elle est passé de 22 571 tonnes en 1971 à 86 561 tonnes en 1987.

Les poissons saisonniers représentent un pourcentage de l'ordre de 80% de la quantité totale du poisson débarqué.

2 - LA CONSOMMATION DES POISSONS EN ALGERIE / :

La consommation des produits de la pêche en Algérie est faible par rapport au pays voisins de la méditerranée. Elle est de 4,5 kg/habitant/an en Algérie, alors qu'elle est de 13,5 kg/habitant/an dans les pays de la méditerranée.

Pour augmenter ce taux de consommation, l'Algérie a des perspectives de développement de la production. Elle serait de 179,255 milles tonnes à l'horizon de l'an 2.000 (Ministère de l'Hydraulique, des Forêts, et des Pêches).

3 - ETUDE DU POISSON / :

3 - 1 - GENERALITES SUR LE POISSON / :

3 - 1 - 1 - MORPHOLOGIE ET CLASSIFICATION / :

La forme typique des poissons est fusiforme. Le corps porte des nageoires qui sont soit paires, soit impaires.

La peau porte en générale des écailles et parfois des denticules. (Jamet-J. et Coll, 1974).

- LA SARDINE / :

Super ordre : Teleostéens

Ordre : clupeiformes

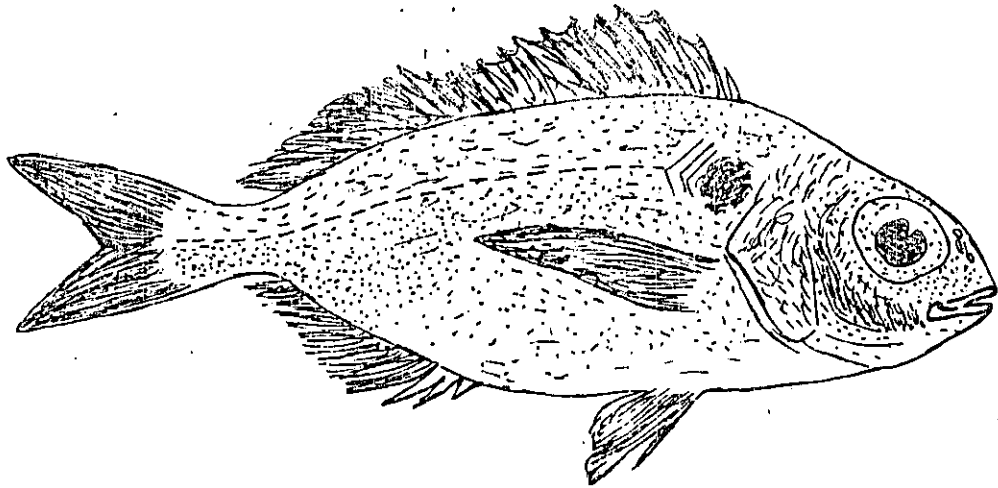
Famille : clupeidés

Genre : Sardina

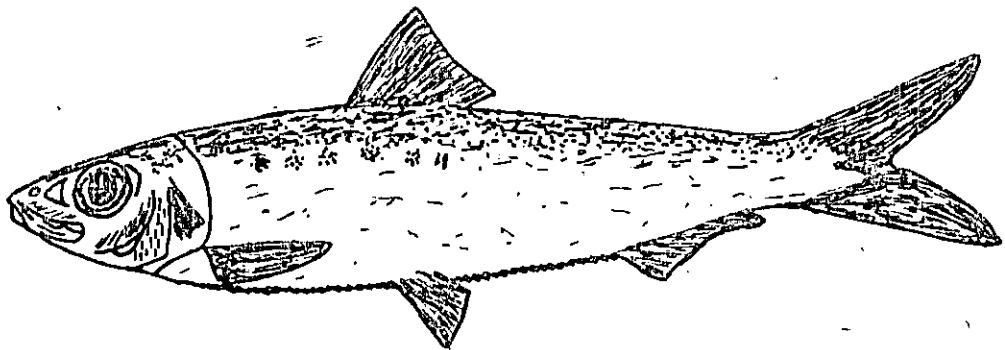
Espèce : Sardina pulchardus (WALBAUM, 1792)

Nom commun : Sardine Européenne.

...../.....



Pagellus centrodontus



Sardina pilchardus

ANNEE	Poisson blancs (par tonnes)	Poissons saisonniers (par tonnes)	TOTAL (par tonnes)
1971	3279	19292	22571
1972	4276	22045	26325
1973	4601	25014	29615
1974	5420	27606	33026
1975	5345	30215	35560
1976	5625	27686	33312
1977	5641	35807	41441
1978	5924	25920	31844
1979	6752	29664	36416
1980	2229	25085	27314
-	-	-	-
1986	16648	55695	72343
1987	14986	71575	86561

Tableau 2 /: Evolution de la production des poissons en ALGERIE (D'après le ministère de l'hydraulique, des forêts et des pêches.).

LE PAGEAU / :

Super ordre : Téléostéens

Ordre : perciformes

Famille : sparidés

Genre : Pagellus

Espèce : Pagellus centrodentus (DELAROCHE, 1809)

Pagellus bogaraneus (BRUNNICH, 1768)

Nom commun : Gros-yeux.

3 - 1 - 2 - ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE DU POISSON / :

3 - 1 - 2 - 1 - SQUELETTE / :

On distingue chez les poissons : un endosquelette qui est constitué par la colonne vertébrale, les OS craniens, et les ossatures qui supportent les nageoires. Et un exosquelette; qui est constitué par des formation dermiques plus ou moins ossifiée (denticules, écailles). (F.saudan, et coll., 1965).

3 - 1 - 2 - 2 - LA PEAU / :

La peau du poisson est revêtue d'un épiderme visqueuse porte en générale des nombreuses écailles de forme très variable, produite par les papilles du derme (il y a un derme, et un épiderme). Elle assure l'isolement du milieu ambiant plus complètement par une sécrétion abondante du mucus. (F.Saudan, et coll., 1966).

3 - 1 - 2 - 3 - LES MUSCLES / :

Les muscles sont à la fois la partie la plus intéressante du point de vue alimentaire, et la plus importante en poids : 35 à 65% du poids totale.

(F.Saudan, et col., 1965).

On peut les déviser en 3 catégories :

- Les grandes lateraux qui s'étendent symétriquement du part et d'autre de la colonne vertébrale et forment la grande masse du corps. (J.Jamet, et col., 1974).

D'après le teneur en graisse des muscles latéraux on distingue : Les poissons gras dont le muscle est un véritable tissu de réserve, et les poissons maigre, dont le foie qui est le tissu de réserve. (F.Saudan, et col., 1965). / ...

- Les muscles rouges ou muscles de vogt :

Ils sont fortement irrigués par le sang et imprégnés de graisses. Le dépôt graisseux est intracellulaire, et même extracellulaire comme dans les muscles latéraux. (Saudan, et coll., 1965).

Les muscles rouges sont particulièrement développés chez les poissons pélagiques. (J. Jamet, et coll., 1974).

- Les muscles des nageoires :

Sont des muscles blancs, ce sont essentiellement des muscles carénaux dorsaux et ventraux. (F. Saudan, et coll. 1965. M. Sainclivier, 1983).

3 - 1 - 2 - 3 - LES BRANCHIES / :

Les poissons respirent normalement dans l'eau au moyen : des branchies.

L'eau est généralement aspirée par la bouche et refoulée à travers les arcs branchiaux, dont les ogives accotées fonctionnent comme une grille filtrante. Toutes les impruretés restent fixées dans le mucus des branchies, qui constituent de ce fait un foyer de contamination bactérienne. (F. Saudan, et coll. 1965).

3 - 1 - 2 - 5 - LE SANG / :

Les poissons sont des animaux à sang froid. Leur sang ne diffère guère de celui des vertébrés supérieurs.

Il est constitué d'un liquide plasmatique incolore, des globules rouges, et de globules blancs. Les globules rouges sont en forme de lentilles et présentent un noyau.

(F. Saudan, et coll., 1965).

3 - 1 - 2 - 6 - L'APPAREIL DIGESTIF / :

L'appareil digestif est composé de la bouche (n'a aucun rôle dans la mastication), oesophage, foie, pancréas, intestin, et l'appendice pylorique (particularité des poissons). (F. Saudan, et coll., 1965, J. Jamet, et coll. 1974).

3 - 1 - 2 - 7 - L'APPAREIL GENITO-URINAIRE / :

Les reins sont rudimentaire, il s'en échappe un conduit urinaire, qui s'ouvre tout à côté de l'anus par un orifice. (J. Jamet, et coll., 1974)./.....

Les sexes sont généralement séparés, l'hermaphroditisme est rare. De même sont ovipares et vivipares. (A.monvoisin,1947)

3 - 2 - LES CONSTITUANTS CHIMIQUES DE LA CHAIR DU POISSON / :

La composition chimique des tissus des poissons est identique à celle des tissus des animaux terrestre. La différence la plus remarquable se situe au niveau des lipides et protéines

Les principaux constituants sont : L'eau 66 à 84% protéines 15 à 24%, lipides 0,1 à 22%, substances minérales 0,8 à 2% et une faible quantité de sucre, vitamines.

(G.Borgstrom,1961).

Ces teneurs varient selon l'espèce, le sexe, l'environnement, les saisons, les différences anatomiques et les variations physiologiques. (M.Sainclivier,1983)

3 - 2 - 1 - L'EAU / :

3 - 2 - 1 - 1 - TENEUR ET NATURE DE L'EAU DANS LE POISSON / :

L'eau est l'élément chimique le plus important en quantité dans la chair du poisson. Elle joue un rôle très important au cours de la congélation du poisson.

L'eau soit liée aux protéines qui sont : des molécules hydrophobes de 4 à 10 g. d'eau pour 100 g. des protéines; soit libre qui est à la base des liquides organiques. (F.Saudan, et coll,1965). On estime que 70% d'eau se localise dans les myofibrilles, 20% dans la sarcoplasme, et 10% dans le tissu conjonctif (M.Sainclivier,1983).

Donc ce sont les protéines myofibrillaires (actine et myosine) qui participent le plus à la rétention d'eau dans la chair du poisson.

3 - 2 - 1 - 2 - IMMOBILISATION DE L'EAU DANS LES MYOFIBRILLES / :

La quantité de l'eau immobilisée dépend de l'espace disponible entre les filaments, le PH influe aussi sur la capacité de rétention d'eau. Le minimum est observé à PH 5 à 5,1, qui correspond au point isoelectrique des protéines myofibrillaires. Une augmentation ou une diminution du PH provoque une augmentation de rétention d'eau. (M.Sainclivier, 1983).

...../.....

3 - 2 - 2 - LES MATIERES AZOTEES / :

Les matières azotées du poisson sont essentiellement constituées de protéines, mais non négligeables aussi les constituants azotés non protéiques qui représentent de 7 à 18% d'azote totale chez les téléostéens, et plus de 30% chez les élasmobranches. (M. Sainclivier, 1983).

3 - 2 - 2 - 1 - MATIERES AZOTEES PROTEIQUES / :

Les protéines sont des macromolécules constituées d'acides aminés ; ont une fonction plastique en tant que constituante des tissus musculaires, une fonction enzymatique en tant qu'enzymes, hormones ou anticorps, et une fonction énergétique. (P. LOUISOT, 1983).

Les protéines peuvent être simples (constituées seulement d'acides aminés) appelées holoprotéines comme elles peuvent être constituées d'acides aminés plus d'autres composés. appelées hétéroprotéines (M. Sainclivier, 1983).

Selon leur site dans le poisson les protéines peuvent être intra ou extracellulaire : (M. Sainclivier, 1983)

- Les protéines extracellulaires : les muscles de poisson diffèrent de ceux de la viande rouge par leur teneur en tissu conjonctif et par les caractéristiques de son principal constituant " Le collagène ".

C'est la protéine la plus représentée dans le corps du poisson. Elle se caractérise par sa composition en acide aminé, l'agencement spatial de ses chaînes peptidiques, et la striation transversale de ses fibrilles. Elle joue un rôle très important dans le maintien de la structure, et la dureté des chairs (F. Saudan, et coll., 1965.)

Autres protéines extracellulaires qui sont : l'élastine, la réticuline, les kératines.

- Les protéines intracellulaires : ce sont des protéines situées à l'intérieur de la cellule. Elles sont de deux types sarcoplasmique et myofibrillaires.

...../.....

Les sarcoplasmiques sont des protéines globulaires, de faible viscosité, et de bas poids moléculaire et solubles dans des solutions faiblement ioniques. Elles sont localisées dans le sarcolème (M. Sainclivier, 1983).

Elles représentent de 15 à 20% des protéines totales, plus diversifiées chez les poissons. La teneur la plus élevée est généralement chez les poissons pélagiques (F. Saudan, et coll., 1965).

Et les protéines myofibrillaires constituent le système myofibrillaire des muscles. Elles sont responsables de la contraction musculaire résultant du glissement des filaments les uns sur les autres. (M. Sainclivier, 1983). On les subdivise en protéines de structure (actine et myosine), et en protéines régulatrices (la tropomyosine, les troponines et leurs complexes) qui contrôlent l'interaction actine-myosine.

3 - 2 - 2 - 2 - LES MATIÈRES AZOTÉES NON PROTÉIQUES (NPN) / :

Les constituants azotés non protéiques sont les principaux responsables de la saveur propre du poisson ; tout comme les composants protéiques le sont de la texture plus ou moins fibreuse ou molle.

La teneur du poisson en matières non protéiques est très variable suivant l'espèce, et l'état physiologique. (F. Saudan, et coll., 1965).

L'azote non protéique représente de 9,2 à 18,3% de l'azote totale chez les téléostéens, 33 à 38,6% chez les sélaciens parfois plus de 50% et plus particulièrement de 9 à 14% chez les gadidés, et 16 à 18% chez les clupeidés (SIMIDU W., 1961)

Les matières azotées non protéiques qui soient (ammoniac, mono, di ou triméthyl amine), de faible quantité dans le poisson vivant deviennent plus ou moins importantes après la mort.

3 - 2 - 3 - LES MATIÈRES GRASSES DES POISSONS / :

Les lipides sont les dérivés naturels des acides gras résultant de leur condensation avec des alcools ou des amines.

..../....

Les principaux constituants de la matière grasse sont essentiellement les glycerides (le plus souvent triglycerides) qui proviennent de l'estérification du glycérol des acides gras. (A. Monvoisin, 1947). On distingue deux parties des lipides : une dite saponifiable (formation de savons des acides gras par traitement alcalin), et une autre partie dite insaponifiable (M. Sainclivier, 1983).

La composition de la matière grasse varie selon le rôle joué. La matière grasse de réserve est constituée des acides gras insaturés, surtout de l'acide oleique ; ce qui donne l'odeur caractéristique du poisson, comme elle est sous forme de phospholipides quand elle est circulante. (M. Sainclivier, 1983).

3 - 2 - 3 - 1 - LES CARACTERISTIQUES DES LIPIDES DU POISSON / :

La matière grasse du poisson est liquide à température ambiante à cause de la proportion importante des acides gras insaturés. La caractéristique principale de la matière grasse du poisson est sa fluidité, c'est la raison qui fait employer le terme " huile " pour désigner les lipides des poissons. (F. Saudan, et coll., 1965).

3 - 2 - 3 - 2 - TENEUR EN MATIERE GRASSE / :

La teneur en matière grasse est extrêmement variable d'une espèce à l'autre ; car il y a des poissons gras, semi-gras et autres maigres (M. Sainclivier, 1983).

Le cycle sexuel, le régime alimentaire, la température de l'eau, et les saisons influent aussi sur la teneur en matière grasse que sur sa composition. (M. Sainclivier, 1983).

3 - 2 - 3 - 3 - L'EMPLACEMENT DES LIPIDES DANS LE POISSON / :

L'emplacement de la matière grasse dans le poisson maigres est fixée d'une grande partie dans le foie, et les muscles ne contiennent qu'une faible quantité, le contraire chez les poissons gras, et chez les semi-gras l'emplacement de la matière grasse est dans le foie que dans les muscles.

En générale le foie et les viscères constituent dans toutes les espèces un lieu de prédilection de dépôt de la matière grasse (M. Sainclivier, 1983).

..../....

Il est toute fois incorrect de dire que le foie est un lieu de dépôt de la matière grasse chez toutes les espèces. (Tableau.3.) (M.Sainclivier,1983).

ESPECES	FOIE	VISCERES
CABILLAUD	9,4%	1,4%
THON ROUGE	9 à 35%	2,5 à 3,9%
SAUMON	8 à 10%	6,5%
ALOSE	7,5%	9%

TABLEAU3/ : Répartition des graisses dans le foie et les viscères chez quelque espèces des poissons.

3 - 2 - 4 - LES GLUCIDES / :

Le poisson est pauvre en glucide à cause d'une glycogénolyse très active. Le glycogène qui est une forme de stockage du glucose dans le muscle du poisson, représente les glucides du poisson.(A.Monvoisin,1947).

La teneur en glucides depend de l'espèce, de la fatigue, et du régime alimentaire. En générale la chair rouge contient plus de glucides que la chair blanche.

Il est difficile de déterminer avec certitude la quantité du glucose libre dans la chair du poisson du fait que le glycogène se décompose très rapidement après la mort. (M.Sainclivier,1983).

3 - 2 - 5 - LES MATIERES MINERALES / :

Sous la dépendance du milieu le poisson est très riche en matières minérales, un bon nombre de ces minéraux sont combinés à la matière organique.

La teneur du poisson en matière minérales dépend de l'espèce, de l'environnement, la taille et la saison de pêche. (M.Sainclivier,1983)

3 - 2 - 6 - LES VITAMINES / :

Les vitamines sont des compés répandus dans le règne animal et végétal, existant en petite quantité dans la nourriture, indispensables à la croissance et à l'entretien des organismes(P.Louisot,1983).

Le poisson possède une grande capacité de stockage des vitamines, à l'époque était la source principale des vitamines surtout A et D ayant leur synthèse industrielle (F.Saudan, et coll.,1965).

La teneur du poisson en vitamines varie selon l'espèce, l'âge, la saison, les lieux de pêche, le sexe, et le cycle sexuel.(M.Sainclivier,1983).

3 - 3 - LES CAUSES D'ALTERATION DU POISSON / :

Le poisson est un denrées alimentaire extrêmement périssable, qui exige d'être manipulé avec énormément de soin à tous les stades de la production, et de la distribution. Car à partir du moment où le poisson est pêché ; le problème de sa conservation en parfait état de fraîcheur est souvent difficile, en raison de l'activité enzymatique des tissus eux même, et celle des bactéries contaminantes. Il faut considérer successivement trois causes d'altération ou de contamination du poisson : (M.Sainclivier, 1983).

- Le système enzymatique
- Contamination chimique
- Contamination bactérienne.

3 - 3 - 1 - LE SYSTEME ENZYMATIQUE / :

Le système enzymatique du poisson lui même et particulièrement celui du tractus digestif, est en général le premier responsable du début d'altération ; car il prépare le milieu aux bactéries surtout, les enzymes des intestins qui attaquent, ramollissent et modifient la paroi abdominale, permettant ainsi la pénétration des bactéries, cette action enzymatique est désigné sous le nom d'AUTOLYSE. Elle conduit à la formation d'amino-azote libre et basique, créant un milieu favorable au développement bactérienne(MSainclivier,1983).

La détérioration autolytique du chair du poisson est due aux enzymes protéolytique, digestive chez le poisson non éviscère(tel que les endopeptidases, et les exopeptidaser), et les enzymes protéolytique tissulaire(les protéinases, et les protéinases alcalins). Il y a aussi l'action des dipeptidases, et d'autres enzymes tel que les lipases(Billon,1978).

...../.....

Quelles que soient les enzymes, l'activité enzymatique, toute comme l'action bactérienne, est accrue par la température. L'autolyse est presque inexistante à 0°C et s'élève avec l'augmentation de la température. Celle-ci n'agit pas seulement sur la vitesse, mais aussi sur la nature de l'altération par voie enzymatique (M. Sainclivier, 1983).

Les diverses réactions qui conduisent à la formation de multiples produits d'altération (HS₂, NH₃, TMA, ...), ont lieu à des gradients thermiques différents, de sorte que le type d'altération dépend étroitement de la température (M. Sainclivier, 1983).

3 - 3 - 2 - LA CONTAMINATION CHIMIQUE / :

Les réactions purement chimiques sont très tentes chez les poissons, et peuvent par conséquent être négligées la plupart du temps dans des circonstances normales; ces réactions se manifestent nettement lorsque la détérioration bactérienne est freinée. Le rancissement de la graisse de certains poissons gras, tels le hareng et le maquereau, ainsi que la coriacité et l'état filandreux du poisson surgelé après certains temps constituent des exemples d'altération chimique. (P. HOVART et Coll., 1964).

Les effets de la pollution sur le poisson constitue aussi une cause de contamination chimique, ces effets sont assez difficile à observer. Les source de cette contamination : sont les fuites et les accidents des pétroliers, les rejets des eaux domestiques et industrielles, la modernisation de l'agriculture (l'utilisation des engrais et des pesticides) (J. Jamet, et coll., 1974).

Cette contamination se traduit :

- par une action toxique
- par une action substitutionnelle.

Qui peuvent créer un milieu favorable au prolifération bactérienne. (M. Sainclivier, 1983).

3 - 3 - 3 - LA CONTAMINATION BACTERIENNE / :

S'il n'y a pas la contamination bactérienne, la conservation des poissons serait beaucoup plus facile. C'est essentiellement contre elle que l'on doit lutter, c'est pourquoi le problème primordiale du poisson aliment est celui de la qualité
..../...

bactériologique (J.BILLON,1978).

La flore bactérienne des poissons varie suivant certains facteurs : environnement, saison, température qui constitue le facteur le plus dominant de la détérioration bactérienne et le traitement subis après la capture.(K.Oteng-Gyang,1984. P.Hovart,et Coll.,1964).

Trois niveaux de contamination doivent être observés : (K.Oteng-Gyang,1984).

- Sur le poisson nouvellement pêché : la chair du poisson est normalement stérile, cependant la peau est polluée ainsi que le tube digestif et les branchies(J.BILLON,1978).

Les espèces microbiennes rencontrées normalement dans le poisson sont surtout des gram-négatifs(95%) : Il y a prédominance des pseudomonas, puis les achromobacter, acinetobacter, flovobactérium, serratia, vibrio,bacillus, et clostridium.(F.Saudan,et Coll.,1965).

Il faut signaler que l'eau utilisé pour le lavage peut avoir une influence sur le type de la flore prédominante sur les poissons.

- A bord du bateau/chalutier
- Sous la glace.

La prolifération des espèces contaminantes est influencée par des facteurs intrinsèques (la composition du poisson, teneur en eau, PH du poisson), et des facteurs extrinsèques (tels la température et l'humidité de l'environnement).

Les micro-organismes continuent à se multiplier à l'intérieur de la chair, et en même temps, attaquent les tissus en formant certains corps, qui n'existent pas normalement dans l'organisme, qui verront leur taux évaluer parallèlement à la population microbienne, tel que la formation de trimethyl-amine (TMA), ammoniacque(NH₃), Histamine, hydrogène sulfureux (H₂S) mercaptan.

(J.BILLON,1978. F.SAUDAN,et Coll.,1965).

La transformation aboutit à une dégradation irréversible, qui rend le poisson inconsommable, et parfois toxique.

Ces transformation se perputent sur la sante humaine par deux mode :(M.Sainclivier,1983).

...../.....

- Intoxication : Absorption de toxine performé dans le poisson par les bactéries contaminantes telles que staphylococcus, clostridium bothulinium , et proteus .

- Toxi-infection : L'absorption directe de la bactérie pathogène , en même temps que l'on ingère le poisson contaminé (salmonella , clostridium parferingis) .

II - LA CONSERVATION PAR LE FROID.

Les poissons et les produits de la pêche sont très périssables. Pour une bonne conservation de longue durée; le froid est l'une des méthodes les plus couramment utilisées.

L'intérêt de la conservation par le froid est double: hygiénique et économique. (R.PLANK, 1965).

1 - Importance du Froid.

1.1.- Importance Hygiénique.

Les poissons compte tenu de leurs mode de vie sont exposés aux contaminations de toutes sortes dont les plus importantes sont bactériennes, et celles provient des altérations spontanée. Le froid réduit ou supprime le risque des intoxi-infection ou intoxications (J.BILLON, 1978, P.HOVARRE; 1964). Et ceci par stabilisation du développement microbien et de ralentir du façon notable l'effet des enzymes (ANN. ... 1947, P.SOUDAN, 1965).

1.2.- Importance économique.

La conservation par le froid permet la revalorisation du secteur de la pêche par l'allongement de la durée de conservation des poissons. Le surplus de la consommation locale, ainsi que les espèces non consommées localement peuvent être exporter lorsqu'elles sont convenablement traitées par le froid (DIEVZEIDE et COME, 1956, R.PLANK, 1965). Et aussi possibilité de disposer des produits saisonniers pendant toute l'année, et permet à l'état d'appliquer une politique nationale des prix.

2 - Modalité d'application du froid.

2.1.- La réfrigération.

Le mot réfrigération implique une conservation à des températures souvent non inférieures à 0°C . L'état des produits réfrigérés pas (K. Oteng. Gyang, 1984).

Parmi les agents de refroidissement; la glace présente des avantages Elle a un grand pouvoir refroidissant pour un poids ou un volume, inoffensif, transportable. La présence de la glace maintient le poisson froid, humide et brillant et évite la dessiccation qui accompagne fréquemment d'autre méthodes de réfrigération (MIO, 1975).

.../...

...

...

...

2.2.- La Congélation.

Le terme " Congélation" est utilisé pour les produits qui ont subi un traitement par le froid, et qui sont stockés généralement à des températures inférieures au point de solidification, souvent jusqu'à ce qu'ils soient vendus au consommateur. La Congélation entraîne la formation des cristaux de glace de tailles différentes selon la vitesse de congélation dans les cellules des produits alimentaires (R.DIEUZEIDE et COLLE ; 1950).

2.2.1.- La vitesse de Congélation.

Il existe trois types de congélation: 2.2.1.1- Congélation lente: Les cristaux de glace formés sont gros, ce qui peut entraîner la répture des tissus cellulaires des produits alimentaires, endommageant ses structures physiques.

2.2.1.2.- Congélation moyennement rapide.

suscite à la formation de nombreux cristaux de glace de tailles fines et petites. Ces cristaux ne détériorent pas les membranes cellulaires des tissus des produits alimentaires, et réduit également la perte de poids des produits.

2.2.1.3.- Congélation ultra rapide.

C'est la plus intéressante, car plus la congélation est rapide, moindre la tailles des cristaux de glace formés, moins les cellules endommagées et plus la qualité du poisson sera bonne (K.Oteng.Gyang 1984).

3- Action du froid.

3.1.- Action de la réfrigération.

La réfrigération n'est pas capable de donner à un produit les qualités de fraîcheur. Au contraire il permet de stabiliser la matière dans l'état où elle se trouvait soit au moment de la pêche (Réfrigération à bord) soit au débarquement et jusqu'à la consommation (Réfrigération à terre). L'activité enzymatique n'est que retardée, et très souvent la croissance des micro organismes psychrophiles peut s'effectuer au ralenti. Il s'en suit une durée de stockage courte, par fois de quelques jours seulement (K.Oteng Gyang, 1984).

Dés que l'action du froid cesse, l'activité enzymatique se déclenche et les micro organismes qui ne sont pas tous tués mais paralysés, prolifèrent de

.../...

nouveau et représentent leur oeuvre destructrice .

3.2. Action de la congélation :

3.2.1.- Modification des propriétés chimique et biochimique du poisson congelé:

3.2.1.1.- Dénaturation des proteines :

On appelle dénaturation une modification de la conformation de la molécule sans qu'il y ait rupture de liaisons covalentes. Cependant les proteines dénaturées perdent leur élasticité et une partie de leur solubilité .

Les proteines subissent lors du stockage en congélation des modifications liées d'une part aux conditions physique de ce mode de conservation (basse température, cristallisation de l'eau ...) et d'autre part aux conséquences de ce traitement (variation du PH, concentration en sels) (R.ROSSET ET COLL., 1974).

L'analyse des proteines montre que la dénaturation porte surtout sur l'Acto-myosine extractible , qui représente 70 à 75 % des proteines totales à l'état frais , et disparaît presque complètement après 15 à 20 semaines de stockage à -12°C .(MOUFOUK, 1976)

Dans la congélation du muscle ; la dénaturation des proteines est la plus intense dans l'intervalle (-1°C à -5°C) et elle ralentit lorsque la température s'abaisse .(F.SOUDAN et COLL., 1965)

3.2.1.1.1.- Les facteurs de dénaturation/

Plusieurs facteurs interviennent dans la dénaturation des proteines des poissons congelés :

3.2.1.1.1.1.- L'altération du poisson frais :

Chez le poisson congelé la qualité diminue en fonction du délai qui s'écoule entre la pêche et la congélation . L'expérimentation a montrée que pour la morue la dénaturation encore compatible avec l'obtention d'un produit congelé satisfaisant est atteinte après environ 5 jours en glace .(M.DIDI , 1986)

.../...

L'expérience poursuivie sur 12 téléostéens et 1 Raie montre que :
a- La dénaturation est toujours plus forte sur les filets que sur les poissons de même origine .

b-Elle est plus forte sur les poisson congelé en post rigor plutôt que pré-rigor.(F.SOUDAN, 1965)

3.2.1.1.1.2.- Vitesse de congélation:

Elle intervient dans la mesure où elle détermine la taille des cristaux, leur répartition , ainsi que la localisation des zones où il y a concentration de sels.

La dénaturation des protéines est proportionnelle à la vitesse de congélation ; plus la vitesse augmente la dénaturation des protéines augmente .(R.ROSSET et coll. , 1974)

3.2.1.1.1.3.-La température et la durée du stockage:

La température et la durée du stockage jouent un rôle très important dans la dénaturation des protéines. Car une dénaturation maximale est observée pour des températures de stockage comprises entre -1 et -5°c . Elle influence aussi les pertes de poids . Plusieurs auteurs sont unanimes à reconnaître que les pertes de poids sont importantes que la température et la durée de stockage sont importantes. (R.ROSSET , 1974)

3.2.1.1.1.4.- Influence des sels sur les propriétés des protéines:

L'influence des différents sels est liée au pH de la solution protéique. Le chlorure de sodium et le chlorure de calcium diminuent la viscosité de la solution protéique, lorsque son pH est 5,0 la viscosité de la solution au contraire augmente pour des valeurs de pH proches du point isoélectrique, les interactions entre protéines diminuent tandis que les interactions sels-protéines augmentent . (R.ROSSET , 1974)

3.2.1.1.1.5.-Les conséquences de la dénaturation des protéines:

La dénaturation des protéines provoque la diminution de la capacité de rétention d'eau qui est fonction de l'altération des protéines, la modification de la structure et l'ultrastructure du muscle , et dénaturation des enzymes qui sont accompagnées d'une diminution de leur activité.(R.ROSSET , 1974)

3.2.1.2.- modification des lipides:

Les produits de la pêche et les poissons en particulier contiennent un important pourcentage des acides gras insaturés, qui sont attaqués par l'oxygène de l'air et les oxydases, au cours de l'entreposage provoquant ainsi une modification du goût et d'odeur "Odeur de rance". Cela se manifeste par l'apparition des taches vireuses, jaunâtre au niveau du produit.

Le rancissement est un processus complexe dans lequel intervient l'hydrolyse des estères d'acides gras (glycérides et phospholipides), l'oxydation cétonique, la formation de peroxyde et la dégradation de ces corps en composés divers; tel que l'aldéhyde et les cétones, qui sont les responsables du goût et d'odeur agréable.

L'entreposage prolongé, le déplacement rapide de l'air dans les chambres froides, la porosité de la surface due à la déshydratation ou à la dénaturation des protéines, favorisent le phénomène de rancissement. Les lipides sous cutanés s'oxydent plus que les lipides musculaires. (F.SOUDAN, et COLL., 1965)

3.2.1.2.1.- La déshydratation :

Les poissons présentent une peau sèche, opaque et spongieuse au cours du stockage, et au fur et à mesure que le temps de stockage passe ces défauts progressent (appelés souvent les brûlures de froid). (F.SOUDAN et COLL., 1965)

3.2.1.2.2.- L'odeur :

L'altération de l'odeur est due en grande partie à la production des bases azotées volatiles sous l'action enzymatique ou bactérienne. Pour éviter l'altération de l'odeur; les poissons doivent être congelés en bonnes conditions. (A.MONVOISIN, 1947)

3.2.1.2.3.- La saveur:

L'oxydation des graisses est la cause principale de l'altération de la saveur, qui se traduit en premier lieu par la perte de la saveur spécifique et en deuxième lieu l'oxydation est avancée, la présence d'une saveur anormale, désagréable connue sous le nom de "Goût de rance". (F.SOUDAN et COLL., 1965)

3.2.1.3.- Modification de la couleur:

L'hémoglobine libérée par l'éclatement des globules rouges sous l'effet du froid, s'oxyde et se transforme en métamoglobine plus foncée, qui s'accumule dans les yeux, les branchies; entraînant un assombrissement

de la couleur initiale .(F.SOUDAN et COLL.,1965)

3.1.2.4.- Modification de la texture:

Le poisson frais, cru, a une consistance ferme et gélatineuse . Si on exerce une pression modérée, on ne provoque pas l'exsudation du liquide lié aux tissus., Par contre, un poisson congelé maintenu en stockage frigorifique pour une durée assez longue laissé échapper, à la décongélation un exsudat plus ou moins abondant ; une pression modérée provoque la formation d'un exsudat supplémentaire .

Cette modification de l'état de produit implique des changements dans l'équilibre hydrique des tissus qui proviennent en partie de l'écoulement des cellules , et en partie de la dénaturation des protéines qui diminuent la capacité de rétention d'eau .(..J.DYR, & DIRGLE cité par M.DIDI, 1986)

3.2.2.- Action du froid sur les micro-organismes / :

L'action de la congélation se localise surtout au niveau des membranes. La lésion se traduit par la diffusion des organismes intracellulaires dans le milieu extracellulaire.

Cette lésion se présente sous deux formes :

- Modification de la perméabilité qui est due essentiellement à la dénaturation des protéines .
- Dichérences des membranes : C'est une action surtout mécanique due à la formation des cristaux de glace intracellulaire de taille plus ou moins grande au cours de la congélation lente . (F.SOUDAN et COLL., 1965).

Origines des lésions :

La congélation altère les membranes cellulaires , d'une part , par une action purement mécanique , mais aussi par des modifications chimiques de plus par refroidissement, nous pouvons déjà tuer des cellules .(R.ROSSET et COLL., 1974)

3.2.2.1- Le choc thermique :

Il entraîne un déséquilibre au niveau des réactions métabolique et même aussi des lésions membranaires. Ainsi certaines bactéries mésophiles et thermophiles (Telque : E. coli), leur population viable est très fortement diminuée par un choc thermique de 37°c à 0°c (R. ROSSET et COLL., 1974)

La flore bactérienne du poisson qui est formée en grande partie par des psychrophiles ; semble peu attaquée par le choc thermique . (R. ROSSET et COLL. , 1974)

3.2.2.2. - Formation de la glace :

Les cristaux de glace formés lors de la congélation provoquent la déchirure des membranes cellulaires , déshydratation et concentration en solutés du système cellulaire surtout pendant la congélation lente . (R. ROSSET et COLL. , 1974)

3.2.2.3. - Concentration en solutés :

La concentration en solutés dans les phases non encore congelées peut entraîner :

- Variation du PH par précipitation des composés de la solution.
- variation de l'équilibre ionique .

Une température proche du point de congélation a un effet plus néfaste qu'une congélation rapide . (R. ROSSET et COLL. , 1974)

La destruction des micro-organismes ou leur résistance au froid dépend de plusieurs facteurs : (F. SOUDAN et COLL. , 1965)

- Milieu: La mortalité bactérienne est faible où le PH est voisin de la neutralité. Elle augmente du côté alcalin (minimum à PH = 6 à 6,3).
- Qualité des souches : La plupart des salmonelles , streptocoques, staphylocoque , vibrions cholériques, clostridium ont supportés des températures très inférieures à celles utilisées pour la conservation des poissons congelés.

- Température et durée de congélation .
- La décongélation: Lorsque la décongélation suit la congélation d'assez près ; les germes retrouvés sont souvent plus nombreux que initialement en raison de l'éclatement des colonies sous l'effet des pressions internes élevées pendant la congélation .

Outre les bactéries; les champignons peuvent altérer les produits de la pêche et cela à des températures très basses , ainsi les moisissures. (J. BILLON, 1978)

Dans l'entreposage; le nombre des micro-organismes dans un produit diminue avec le temps . Aucune relation mathématique n'a été formulée pour décrire

..../....

exactement cette réduction en nombre de micro-organisme, mais certains facteurs jouent un rôle . Parmi ces facteurs il y a le manque de nutriment. Mis a part les psychrophiles et les micro-organismes bien adaptés a survivre sans source extérieure de nutriment. Peu de cellules végétatives peuvent survivre longtemps dans de telles conditions .

(K. OTENG GYANG , 1984)

DEUXIEME PARTIE

ETUDE

EXPERIMENTALE

I MATERIELS ET METHODES // :

1/ - CHOIX DES ESPECES / :

Pour notre étude le choix est porté sur deux espèces entières, la sardine et le pageau (gros-yeux).

Nous avons choisi les deux espèces selon leur importance commerciale, leur disponibilité, leur demande par le consommateur, et leur catégorie, l'un est représentant des poissons bleus (sardine) et l'autre des poissons blancs (pageau).

CLASSIFICATION / SARDINE / :

Super-ordre des : Téléostéens
Ordre des : Clupeiformes
Famille des : Clupeidés
Genre : Sardina
Espèce : pilchardus
(Walbaum 1792)
Le nom commun : sardine européenne

La sardine est un poisson pélogique cotière vit dans des profondeurs jusqu'à 180 m, surtout 25 à 55 m le jour 15 à 35 m la nuit, vit en bancs parfois très importants et effectue de grandes migrations.

La reproduction est de Novembre à Avril en Méditerranée, oeufs pélogiques, maturations sexuelles à un an (10-20 cm), se nourrit essentiellement de crustacés planctoniques et autres animaux planctoniques (P. ougis, 1976, FAO, 1987).

PAGEAU (GROS-YEUX) / :

Super-ordre des : Téléostéens
Ordre des : Perciformes
Famille des : Sparidés
Genre : Pagellus
Espèce : centrodontus
(Délarsche 1809)

Pagellus bogaraveo (Brunnich, 1768)

Le nom commun : Gros-yeux ou bougueravel

C'est une espèce qui a une taille maximale 70 cm, démersalesur des fonds variés (Roche, sable, vase) jusqu'à 800 m, les jeunes plus cotiers, les adultes sur la pente du talus continental. La reproduction en été et automne (Tunisie), on remarque la présence de l'hermaphrodisme chez cet espèce, la maturité a 4 à 5 an (22-25 cm), omnivores à predominance carnivore. Les engins de pêche sont les chaluts, filets maillants et palang... de fond.

(FAO, 1987)

2/ - ECHANTILLONNAGE / :

Les échantillons ont été prélevés de l'unité commerciale d'ALGER : la pêcherie. A partir d'un lot en caisse après quelques heures de conservation dans des blocs de glace, entre le moment de la pêche et le prélèvement.

TECHNIQUE DE PRELEVEMENT / :

2 - 1 - PRELEVEMENT / :

Nous avons pris une caisse de sardine et une autre de pageau. Les éléments choisis, au hasard, sont reportés dans des sachets en nylon, dans chaqu'un on met 10 éléments de l'échantillon (le poisson est conservé entier sans éviscération)

2 - 2 - TRANSPORT DE L'ECHANTILLON / :

L'échantillon une fois préparé est transporté dans une glacière, - la durée du transport est approximativement d'une heure.

2 - 3 - CONSERVATION DES ECHANTILLONS / :

Lors de l'arrivée au laboratoire, les échantillons sont mis au froid par réfrigération (+ 4°C) et par congélation à deux températures différentes (-10°C et -18°C).

(R.Dietzeide, N.Novella, 1977)

...../.....

2 - 4 - PRELEVEMENT EN VUE DE L'ANALYSE / :

- Poisson frais : le poisson frais est analysé au moment de l'arrivée au laboratoire.

- Le poisson congelé est analysé chaque 15 jours de conservation, après décongélation dans un réfrigérateur à + 4°C (P.Rapin, 1985) pendant une durée de 14 heures.

3/ - DETERMINATION DE L'ETAT DE FRAICHEUR / :

3 - 1 - L'OBSERVATION DE L'ETAT DE FRAICHEUR / :

Elle se fait d'une part, au niveau de lieu de prélèvement et d'autre part au niveau de laboratoire.

- L'observation au niveau de lieu de prélèvement nous permet de ne prélever que du frais.

- L'examen dans le laboratoire nous permet de comparer la qualité de poisson frais et du poisson après congélation.

3 - 2 - METHODE DE DETERMINATION DE L'ETAT DE FRAICHEUR / :

La méthode consiste à utiliser des barèmes de cotation de fraîcheur de poisson, en examinant l'aspect l'odeur, et la texture.

Nous avons utilisé le barème français de cotation qui est appelé " indice d'altération " , le système de cotation à 13 caractères, chacun de ces caractères est noté de 0 à 6. 0 à l'état frais et 6 pour l'état altéré (/ - - - - -) l'indice d'altération est obtenu en faisant la moyenne arithmétique des notes partielles obtenues, le maximum tolérable est de 3 (tableau . 4).

QUALITE	Les indices d'altération
EXTRA	$\leq 1.3 \pm 0,1$
A	$\leq 2.0 \pm 0.1$ et $\leq 1.3 \pm 0.1$
B	$\leq 3.0 \pm 0.1$ et $\leq 2 \pm 0.1$
Retirer de la consommation humaine	$> 3.0 \pm 0.2$

TABLEAU 4 / : Norme française concernant l'état de fraîcheur
(M Sainclévier, 1983)

4 - ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES / :

4.1.- HUMIDITE /: (R. LE' Q , 1965)

La teneur en humidité est déterminée par la perte de poids subis à dessiccation . Celle-ci s'effectue par la chaleur et la pression atmosphérique .

Procédure/:

— Dans une capsule séchée et tarée , introduire 5 grammes de muscle .

— Porter la capsule dans une étuve à air réglée à une température de $105 \text{ } ^\circ \text{C} \pm 2 \text{ } ^\circ \text{C}$.

-Laisser refroidir dans le dessiccateur durant 12 Heures, peser, et remettre une heure à l'étuve, et procéder à une nouvelle pesée.

-Continuer ces opérations jusqu'à ce que la différence entre deux résultats soit au plus de 0,1 % du poids total du produit.

-Rapporter le résultat à 100 g du poids frais.

4.2.- LE PH /:

-Broyer 10 Grammes de chair de poisson dans 100ml d'eau distillée (PH = 7).

-Mesurer directement le PH de la solution obtenue après broyage.

4.3.- RECHERCHE D'INDOLE./ :

La présence d'indole dans le muscle est significative de l'altération, mais elle est inconstante dans le poisson putréfié.

Procédure. / :

-Broyer 25 Grammes de chair de poisson dans 40ml d'eau distillée, et laisser reposer 10 Minutes.

-Ajouter 20ml d'acide chlorhydrique (HCl) pur (12 N) et agiter.

-Ajouter 10 ml d'alcool isoamylique, bien mélanger, laisser quelques minutes.

-Prélever quelques ml du surnageant, ou à la fois prélever la phase aqueuse et la phase alcoolique (car la réaction est impossible sans présence d'eau.)

-Ajouter une dizaine de gouttes du réactif de KOVACS, et agiter.

-Porter quelques minutes au bain marie bouillant.

* L'apparition d'une coloration rose ou violette dans la phase alcoolique, indique la présence d'indole.

.../...

4.4.- RECHERCHE D'HYDROGENE SULFUREUX (H₂S) / :

_ Broyer 5 Grammes de chair de poisson dans 100 ml d'eau distillée et placer le résidu dans un Erlenmeyer.

_ Fixer un papier au sous Acétate de plomb au bouchon de liège et fermer le récipient.

_ Chauffer quelques minutes au bain marie bouillant.

*Discussion des Résultats.

_ Si le papier reste blanc -- pas d'H₂S et le poisson est frais.

_ Un liséré noir, dont la largeur est supérieur à 1 mm est significatif d'une altération déjà marquée.

4.5. - LES PROTEINES / :

4.5.1- DOSAGE DE L'AZOTE TOTAL / : (R. Lecoq , 1965)

L'azote des composés organiques est transformé en azote ammoniacal sous l'action de l'Acide sulfurique concentré, qui porter à l'ébullition agit comme oxydant.

Les substances organiques se décomposent :

-Le Carbone se dégage sous forme CO₂

-L'Hydrogène donne de l'eau.

-L'Azote ou Azote ammoniacal est fixé par H₂SO₄ sous forme de sulfate d'ammonium (NH₄)₂ SO₄.

Lorsque la matière organique est totalement oxydée; on procède au dosage de l'azote ammoniacal déplacé de sa composition (sulfate d'NH₄) par de la soude hyperconcentrée en excès.

(NH₄)₂ + 2NaOH ----- Na₂SO₄ + 2NH₃ + 2H₂O. L'ammoniac libéré est fixé dans une solution d'Acide borique à 2% et dosé par acidimétrie.



Technique; (ANNEXE).

4.5.2.- DOSAGE DES PROTEINES SOLUBLES /:
(F. SOUDAN ET COLL., 1965).

A- Extraction;

- Broyer 5 grammes (+ 0,02) de chair de poisson dans 100 ml de solvant (Annexe).
- Laisser reposer 10 minutes.
- Centrifuger pendant 10 minutes à une vitesse de 3000 tours / minute
- Recupérer le surnageant.

B. Dosage:

Le dosage se fait par la même technique que pour l'azote total (Annexe). La prise d'essai est de 25 ml, additionné à 25 ml de l'Acide sulfurique (H₂SO₄) et quelques grammes de catalyseur.

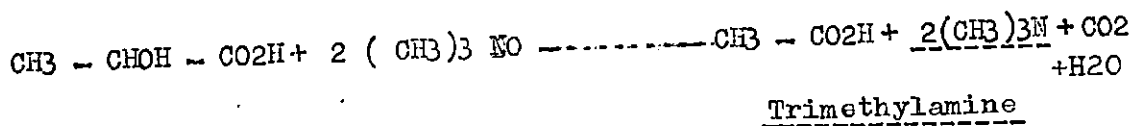
4.6.- DOSAGE DE L'AZOTE BASIQUE VOLATIL TOTAL (ABVT) /:
(R. LECOQ , 1965).

L'ABVT englobe l'ammoniac, et les amines primaires, secondaires, et tertiaires qui sont des produits de dégradation des substances azotées. Le poisson serait inconsommable s'il contient plus de 35 à 45 mg / 100g de chair (J.C. SENEZ, 1968). Technique : (Annexe).

4.7.- DOSAGE DE TRIMETHYLAMINE (TMA) /:

Les recherches ont montré que la TMA ne se produit pas dans le suc stérile du muscle de morue, mais augmente quelle que soit la température de conservation au même rythme que la population bactérienne, avec disparition simultanée du glucose. Beaucoup de microorganismes de la flore marine sont capable d'utiliser l'oxyde de TMA pour la respiration anaérobie facultative, et donne la TMA.

Le poisson devient inconsommable lorsque la TMA atteint 10 à 15 mg / 100g de chair.



Technique /: (Annexe).

5. / - ETUDE MICROBIOLOGIQUE / :

L'étude microbiologique consiste à suivre l'évolution de la flore globale (flore aérobie mésophile et flore psychrophile), recherche des germes responsables de contamination fécale. Dans ce cas, il est à remarquer que les coliformes qui sont généralement considérées comme indice de contamination fécale sont très sensibles au froid, leurs enzymes sont inactivés par des changements de structures irréversibles d'où il n'est pas nécessaire de faire leur recherche (CDIUPI, 1974), les streptocoques fécaux par contre sont plus résistants au froid et ils se comptent comme indice de contamination fécale, et la recherche des germes pathogènes tels que salmonella, vibrion et les germes sulfito-réducteurs qui sont responsables de l'altération du poisson.

5 - 1 - PRELEVEMENT EN VUE D'ANALYSE MICROBIOLOGIQUE / :

Le prélèvement doit s'effectuer dans des conditions d'aseptie rigoureuse.

Deux types de prélèvements ont été envisagés :

- Le premier prélèvement par écouvillonnage.
- Le deuxième prélèvement par broyage du muscle.

5- 1 - 1 - ECOUVILLONNAGE / :

- Délimiter la surface de 1 cm² (dorsale ou abdominale) ;
- Après avoir plongé l'extrémité de l'écouvillon dans de l'eau physiologique, frotter la surface délimitée.
- Le prélèvement est ensuite introduit dans un tube contenant 10 ml de l'eau physiologique.
- Homogénéisation :
- Effectuer les dilutions appropriées.

5 - 1 - 2 - BROYAGE DU MUSCLE /:

Après élimination de la peau par arrachement ,
prélever 5 g. de chair avec du matériel stérilisé.

- La chair est déposée dans le réservoir homogénéisateur.
- La dilution de l'échantillon se fait en additionnant de l'eau physiologique stérile.

Aux cinq grammes de chair nous ajoutons 45 ml de diluant, l'ensemble sera finement broyé à l'aide d'un mixeur du type " Wring Blender ", et nous obtiendrons 50 ml d'une solution homogénéisée.

Nous laissons reposer deux minutes pour permettre la révivification des micro-organismes , ensuite nous effectuons les répartitions dans les milieux de culture appropriés pour dénombrer les germes recherchés .

5 - 2 - TECHNIQUE D'ANALYSE /:

5 - 2 - 1 - DENOMBREMENT DE LA FLORE TOTALE /:

- FLORE AEROBIE MESOPHILE /:

Pour chacune des dilutions retenues, nous prenons deux boîtes de pétrie contenant de la gélose de dénombrement . L'ensemencement se fait avec un ml de la dilution appropriée. L'incubation se fait à 30° c durant 72 heures.

- FLORE AEROBIE PSYCHROPHILE /:

Pour chacune des dilutions retenues , nous prenons deux boîtes de petrie contenant de la gélose de dénombrement , L'ensemencement se fait avec un ml de la dilution appropriée.

L'incubation se fait 4°C pendant 10 jours.

5 - 2 - 2 -

DENOMBREMENT DES STREPTOCOQUES FÉCAUX; GERMES

TEST DE CONTAMINATION FÉCALE / :

On considère comme streptocoques fécaux toutes les bactéries gram-négatives anaérobies facultatives, catalase négatif, fermentant le glucose (Bougeois et Goll, 1980).

Le milieu de RTHE contenant de l'azide de sodium est utilisé pour le test présomptif, et le milieu de Litsky pour la confirmation.

Pour marquer la présence de ces germes, il faudrait passer par deux tests.

- TEST DE PRESOMPTION / :

L'ensemencement se fait en une série de tubes de milieu de ROTHE à différentes concentrations (Annexe).

L'incubation se fait à 37 °c pendant 24 heures.

Les tubes qui présentent un trouble microbien durant cette période d'incubation seront présumés contenir des streptocoques et seront soumis à un test confirmatif.

- TEST DE CONFIRMATION / :

A partir de chaque tube positif nous ensemencons quelques gouttes (4 à 6 gouttes) dans le milieu de Litsky.

L'incubation s'effectue pendant 24 heures à une température de 37°C.

La confirmation de présence des streptocoques fécaux se réalise selon deux conditions :

..../...

- Apparition d'une culture dans toute la masse liquide .

- Présence d'une pastille de couleur violette au fond du tube.

Les résultats sont donnés en nombre de streptocoques fécaux par gramme de chair à l'aide de la table de NPP (nombre plus probable). (Annexe.)

5 - 2 - 3 - - RECHERCHE DES GERMES PATHOGENES / :

5 - 2 - 3 - 1 - RECHERCHE DES SALMONELLES / :

Les salmonelles appartiennent à la famille des enterobactéries, aérobies et facultativement anaérobies oxydase négatifs, catalase positif, dégradant les glucides par métabolisme fermentatif (Bourgeois et Coll.,1980.)

La recherche des salmonelles nécessite 4 phases successives.

- PREMIER ENRICHESSEMENT / :

Il s'effectue sur le bouillon au sélénite azide de sodium(SFB) qui est fondé sur son aptitude à favoriser le développement des enterobactéries pathogènes tout en inhibant les autres germes d'origine entérique (AFNOR,1986).

Il s'effectue à partir de l'échantillon à analyser de manière à ensemercer :

- 50 ml de broyat dans un flacon de SFB à double concentration.

- 10 ml de broyat dans un flacon de SFB à simple concentration.

- L'ensemble sera mis à incuber pendant une nuit à 37°C.

...../.....

- DEUXIEME ENRICHISSEMENT / :

A partir du premier milieu d'enrichissement à simple concentration, nous prélèverons 1 ml du bouillon de culture afin de réaliser un deuxième enrichissement sur un tube SFB simple concentration, faire incuber à 37°c pendant 24 heures.

- L'ISOLEMENT / :

Après chaque enrichissement, on réalise un isolement sur HECTOEN, les milieux ensemencés sont incubés à 37°c pendant 24 heures.

- LECTURE / :

La suspicion de salmonella se traduit par des colonies bleu vertes à centre noir à différencier de proteus mirabilis. Certains salmonella arizonae donnent des colonies jaune saumon (BOURGEOIS, 1980).

L'IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE / :

Les colonies suspectes sont repiquées sur le milieu ISI (triple sugar iron), la lecture se fera après 24 heures à une température de 37°c.

- LECTURE / :

- CULOT jaune : glucose positif (glu+).
- Noircissement du milieu (H₂S +)
- Présence de bulles d'air et déplacement de la gélose (CO₂ +).

Les résultats seront complétés par le test ONPG, la production d'urée indole, la TDA, ADH, ODC et LDC (Annexe...).

5 - 2 - 3 - 2 - RECHERCHE DE VIBRIONACEAE / :

Les vibrionaceae sont des bacilles gram-négatifs incurvés. On rencontre généralement 3 sortes de vibrions :

...../.....

VIBRIO CHOLERAE/ :

Aérobie, anaérobie facultative ayant catalase, oxydase positif, il n'hydrolyse pas l'arginine mais décarboxyle la lysine et l'ornithine.

VIBRIO -PARAHAEMALYTICUS/ :

Il exige du NaCl dans tous les milieux de culture, il attaque les sucres par fermentation, mais sans production de gaz, il n'hydrolyse pas l'arginine mais décarboxyle la lysine, indole positif à de rares exceptions (Bourgeois, Coll.,1980).

VRBRIO-ALGINALYTICUS/ :

Il possède une oxydase positif, lysine et arginine positif, ornithine variable.

La recherche de vibrion nécessite 4 phases successives :

- PREMIER ENRICHISSEMENT / :

On ensemence 50 ml de broyat dans un flacon EPA dix fois concentré appelé (EPAI).

Après 12 - 18 heures d'incubation à 37°C, on effectue un deuxième enrichissement et un premier isolement .

- DEUXIEME ENRICHISSEMENT/ :

A partir du flacon EPAI, un deuxième enrichissement a été pratiqué sur eau peptonée alcaline simple concentration (EPA II)incubé également à 37°C pendant 6 à 8 heures.

- L'ISOLEMENT/ :

L'isolement a été pratiqué sur 2 étapes :

- PREMIER ISOLEMENT/ :

Il se fait à partir du flacon EPAI sur gélose nutritive alcaline biliée(GNAB). (Annexe ...) tout en tenant compte de prélever toujours à la surface.

...../.....

- DEUXIEME ISOLEMENT/ :

Après les huit heures d'incubation un deuxième isolement sera effectué du tube EPA II sur le milieu cité précédemment. Les boîtes ensemencées seront incubées à 37°c pendant une nuit.

Après incubation on effectuera la lecture. Les colonies suspectes sont translucides, lisses, bombées.

5 - 2 - 3 - 3 - RECHERCHE DES CLOSTRIDIUMS SULFITO REDUCTEURS/ :

Les clostridium sulfito-réducteurs sont des bacilles ANAÉROBES, gram-positif, sporulés. Deux espèces sont responsables de toxi-infections alimentaires :

- Clostridium perfringens
- Clostridium botulinum.

Ces espèces sont considérées comme "germes test " pour l'appréciation de la qualité hygiénique des denrées alimentaires.

Le milieu utilisé pour, la recherche des clostridium est la gélose viande - foie à laquelle on ajoute du sulfate de sodium et alun de fer ammoniacal.

Dans 3 tubes à essai nous introduisons successivement 10 ml, 5 ml, et 1 ml de broyat.

Les tubes sont portés à 80°c dans un bain marie pendant 15 minutes, pour détruire toutes les formes végétatives.

- Nous chauffons la gélose viande-foie jusqu'à la fusion, nous rajoutons du sulfate de sodium et l'alun de fer ammoniacal.

- Nous ajoutons à chaque tube le milieu cité ci-dessus.

Après refroidissement, les tubes sont incubés à 37°c.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

1/ - L'ETAT DE FRAICHEUR / :

L'étude des tableaux (5,6) et les courbes (fig 1,2) permet de constater que la sardine et le pageau frais (qui subissent une légère réfrigération sous la glace pendant le transport de l'échantillon de lieu de prélèvement au laboratoire) possèdent une très bonne qualité organoleptique. L'indice d'altération est 0,875 chez la sardine et 1,125 chez le pageau, qui sont caractérisés par une couleur brillante, la chair rigide, l'oeil brillant et luisant, et les branchies fraîches et roses.

La sardine réfrigérée à + 4°c pendant une conservation de 15 jours est totalement altérée c'est à dire :

- l'oeil très concave
- branchies grisâtres
- la chair souple, et perte de son élasticité.

L'indice d'altération dans cette période est de 2,78 (tableau 5). Il en est de même pour le pageau, l'indice d'altération est de 2,87 (tableau 6).

Après 30,45,60 jours de conservation, l'altération de la sardine et du pageau réfrigérés à + 4°c est plus avancé et remarquable, et l'indice d'altération dépasse le seuil tolérable qui de 3 (tableaux 5,6).

A - 10°c durant les 15^{ème} jours, le poisson est peu altéré, et presque comparable au frais, l'indice d'altération est 1,43 chez la sardine et 1,291 chez le pageau (tableaux 5,6), il est passé à 1,75 chez la sardine et à 1,625 chez le pageau au 30^{ème} jours de conservation, qui sont caractérisés par :

- l'oeil un peu affaissé
 - teinte des branchies se décolore
 - la chair est élastique
-/.....

Tableau 2/ : Evolution de l'indice de rendement de la saignée en fonction de la température et de la durée en degrés Celsius de saignée.

Température (°C)	Durée (jours)	15 jours	30 jours	45 jours	60 jours
2 + 4 °C	2.7	4.04	4.875	5.125	
2 - 10 °C	1.43	1.75	2.03	3	
2 - 18 °C	1.16	1.64	1.92	2.1	
POISSON SAIGNÉ (SARDINE)	0.875				

continu...

POISSON FRAIS (PAGEAU)				
DUREE	15 JOURS	30 JOURS	45 JOURS	60 JOURS
TEMPERATURE				
à + 4°	2.875	3.791	4.375	5.03
à - 10°	1.291	1.625	1.87	2.45
à - 18°	1.195	1.542	1.791	1.86

Tableau 6 / Evolution de l'état de fraîcheur du poisson en fonction de la température et la durée de conservation selon l'indice d'altération (TABLEAU FRANÇAIS) de cotation).

au 45^{ème} jours de conservation à - 10°c nous avons remarqué une diminution remarquable dans l'élasticité de la chair qui devient souple, et l'oeil plat, l'indice d'altération est de 2,03 chez la sardine, et de 1,87 chez le pageau.

1.2 Mais au 60^{ème} jours de conservation à - 10°c, la sardine est plus altérée (l'indice d'altération est de 3) que le pageau qui a un indice d'altération de 2,45, il semblerait que le pageau est plus résistant au froid que la sardine.

A - 18°c : la sardine et le pageau ne sont que faiblement altérés durant les 15 premiers jours de conservation, qui ont une bonne qualité organoleptique. L'indice d'altération est de 1,16 chez la sardine et de 1,195 chez le pageau, cette caractéristique reste presque la même jusqu'au 60^{ème} jours avec une légère diminution dans l'élasticité de la chair, où l'indice d'altération est 2,1 chez la sardine et 1,86 chez le pageau.

Il semblerait que la qualité organoleptique de la sardine est moins à celle du pageau.

Les altérations de la fraîcheur remarquées dans les 15 premiers jours lors de la conservation à la température de réfrigération (+ 4°c) n'est remarqué qu'après 60^{ème} jours et plus chez le poisson à - 10°c et - 18°c.

Une déminution sensible de la qualité organoleptique en fonction de la température et la durée de conservation.

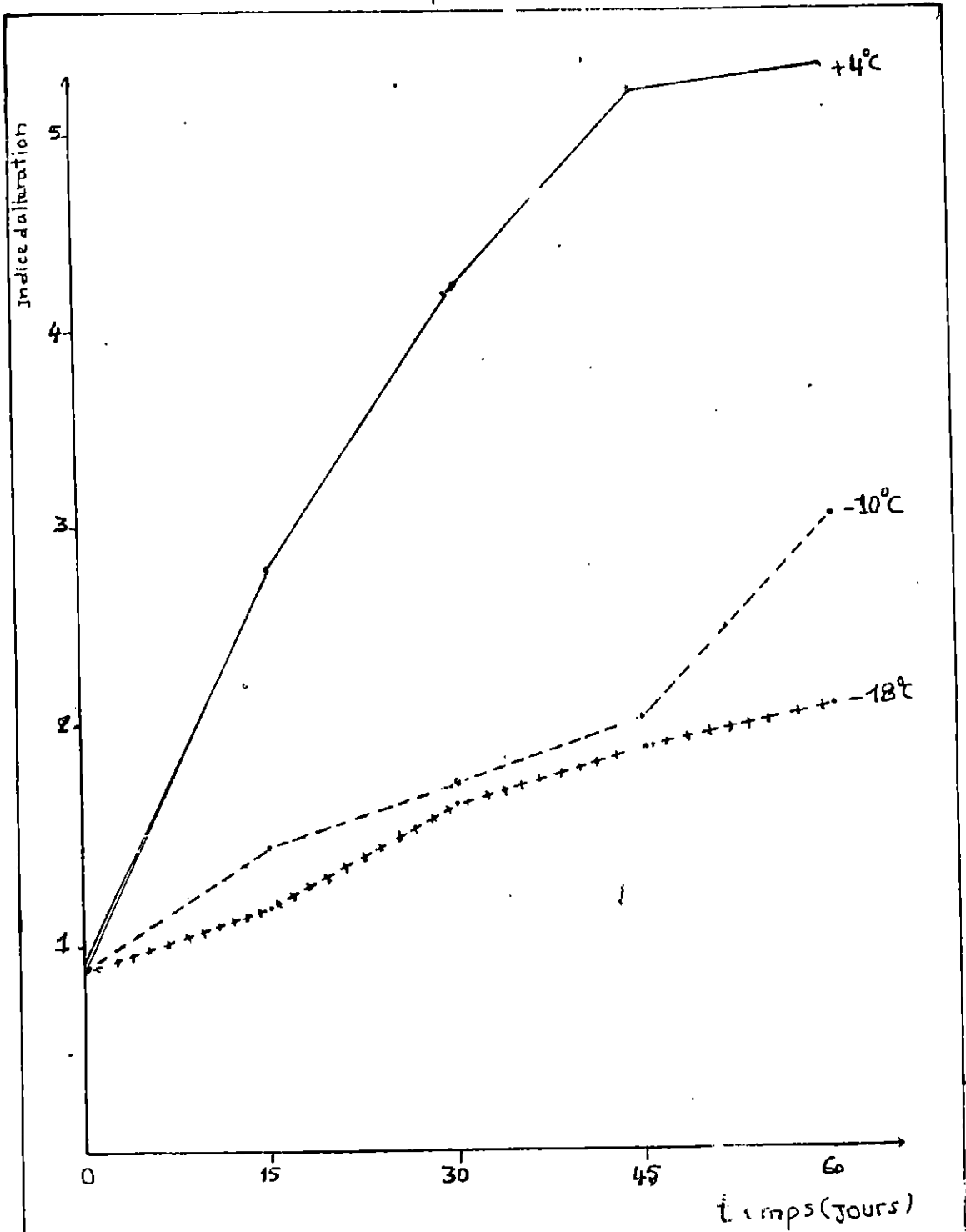


Figure 1 : Evolution de l'état de fraîcheur de la sardine en fonction de la température et la durée de conservation.

2 - Les Tests Physicochimiques :/

2. 1- P H :

Nous avons remarqué une augmentation du PH de la Sardine et du Pageau conservés à des basses températures pendant 60 Jours de Conservation.

Pour la Sardine : Le Tableau 7 montre que la PH est passé de 6,07 (Sardine Fraiche) à 7,29 après 60 Jours de Conservation à + 4°C. Alors qu'il est passé à 6,81 et 6,6 respectivement à les températures de - 10°C et - 18°C pour la même période de conservation.

Pour le Pageau (Tableau 8) le PH est passé de 5,9 (Pageau frais) à 7,48 ; 6,9 ; 6,7 respectivement à des températures de + 4°C ; - 10°C ; - 18°C après 60 Jours de conservation.

L'augmentation du PH est due à la dégradation des substances azotées (voir Tableaux des résultats d'ABVT).

2. 2- Humidité :

La congélation proprement dite s'accompagne de perte d'eau par sublimation de la glace formée (R. Rosset et Coll, 1974).

Pendant une durée de conservation de 60 jours à des basses températures (+ 4°C ; - 10°C ; - 18°C) . Nous avons remarqué une faible diminution de la teneur en eau chez les deux espèces conservées (Sardine et Pageau) (voir tableaux 9 , 10) surtout pour une conservation à - 18°C .

La teneur du poisson en eau dépend du mode de conservation et du conditionnement du stockage. C'est au cours du stockage qu'ont lieu les pertes de poids les plus importantes sous forme de vapeur de refroidissement et sous forme de liquide à la décongélation (R. Rosset et Coll, 1974), Ce qui confirme les résultats obtenus.

2. 3- Hydrogène Sulfureux "H2S".

Pour la Sardine fraîche, nous avons constaté une absence d'H2S. Par contre chez la Sardine conservée à + 4°C ; nous avons noté la présence d'H2S dans les

		PH
SARDINES FRAICHES		6.07
SARDINES CONSERVÉES à + 40° C	15 JOURS	6.57
	30 JOURS	6.8
	45 JOURS	7.04
	60 JOURS	7.29
SARDINES CONSERVÉES à - 10° C		
	15 JOURS	6.27
	30 JOURS	6.03
	45 JOURS	5.5
	60 JOURS	6.01
SARDINES CONSERVÉES à - 18° C		
	15 JOURS	6.17
	30 JOURS	6.33
	45 JOURS	6.51
	60 JOURS	6.1

Tableau 7 / : Evolution du PH de la Sardine en fonction de la température et la durée de Conservation.

		P II
PAGEAU FRAIS		5.9
PAGEAU CONSERVE à + 4°C	15 JOURS	6.6
	30 JOURS	7.06
	45 JOURS	7.22
	60 JOURS	7.48
PAGEAU CONSERVE à -10°C		
PAGEAU CONSERVE à -10°C	15 JOURS	6.31
	30 JOURS	6.58
	45 JOURS	6.74
	60 JOURS	6.9
PAGEAU CONSERVE à -18°C		
PAGEAU CONSERVE à -18°C	15 JOURS	6.1
	30 JOURS	6.27
	45 JOURS	6.44
	60 JOURS	6.57

Tableau 8 / Evolution du PII de pageau en fonction de la température et la durée de Conservation.

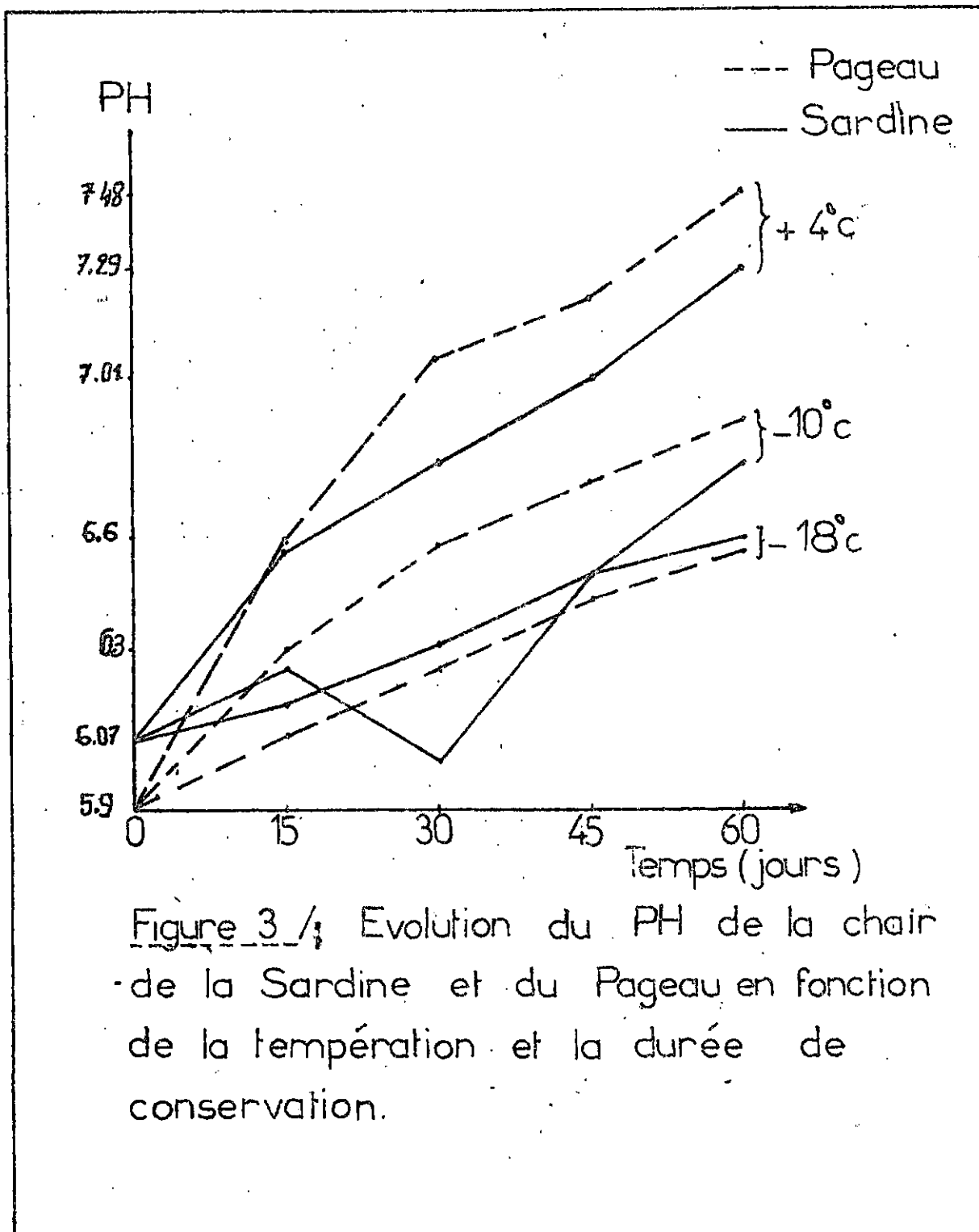


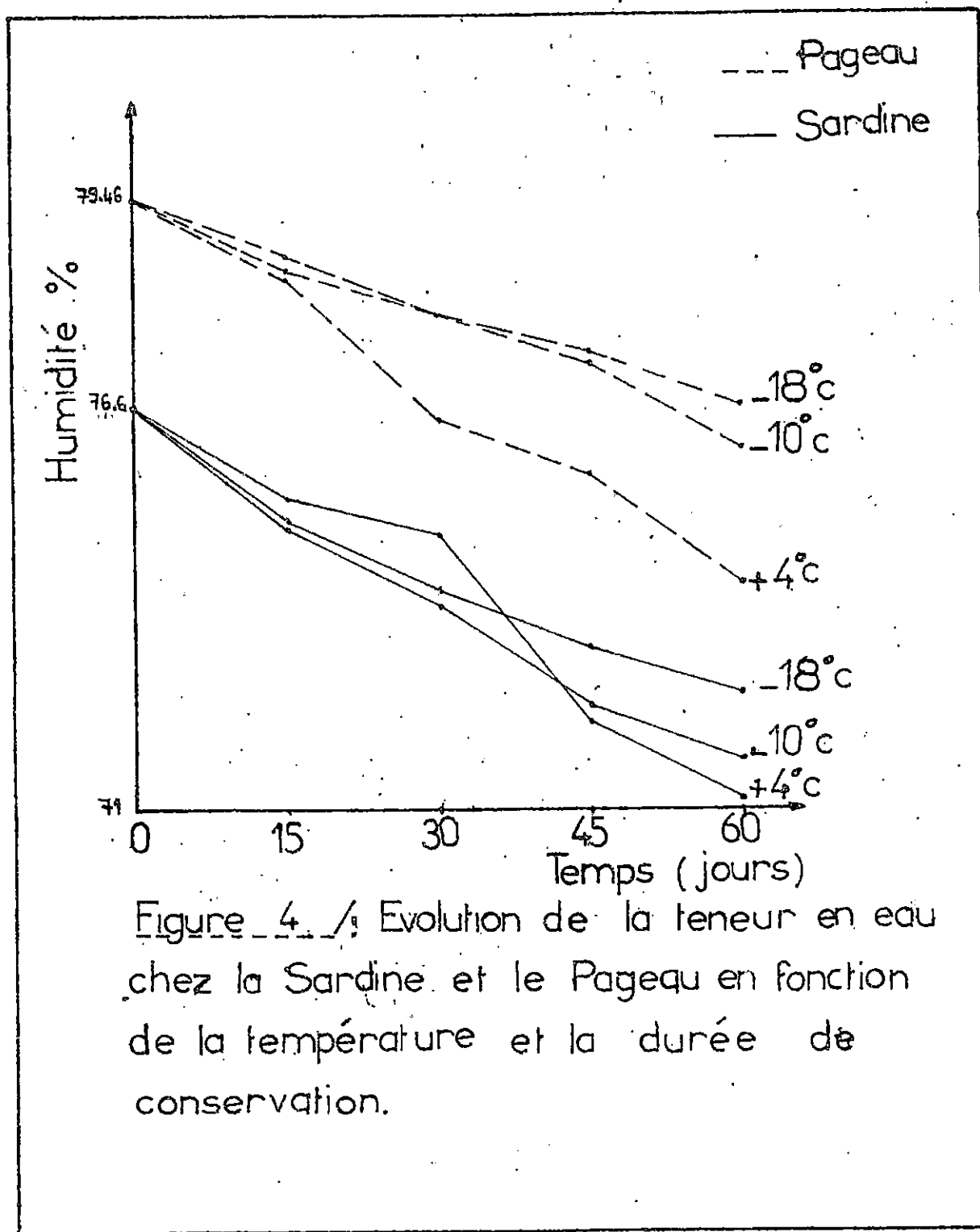
Figure 3 / Evolution du PH de la chair de la Sardine et du Pageau en fonction de la température et la durée de conservation.

		Humidité %
SARDINES FRAÎCHES		76.6
SARDINES CONSERVÉES à + 4°C	15 JOURS	75.34
	30 JOURS	74.5
	45 JOURS	72.2
	60 JOURS	71.14
SARDINES CONSERVÉES à - 10°C	15 JOURS	74.9
	30 JOURS	73.81
	45 JOURS	72.42
	60 JOURS	71.73
SARDINES CONSERVÉES à 18°C	15 JOURS	74.97
	30 JOURS	74.04
	45 JOURS	73.25
	60 JOURS	72.60

Tableau 9 / : Variation de l'humidité chez la sardine en fonction de la température et la durée de conservation.

		EN JOURS	%
PAGEAU		JOURS	79.46
PAGEAU CONSERVÉ à + 4°C	15 JOURS		78.50
	30 JOURS		76.39
	45 JOURS		75.64
	60 JOURS		74.22
PAGEAU CONSERVÉ à - 10°C	15 JOURS		78.7
	30 JOURS		77.92
	45 JOURS		77.16
	60 JOURS		76.03
PAGEAU CONSERVÉ à - 18°C	15 JOURS		76.36
	30 JOURS		77.91
	45 JOURS		77.34
	60 JOURS		76.56

Tableau 10 / : Variation de l'Utilité chez le pageau en fonction de la température et la durée de Conservation.



		PRODUCTION D'HYDROSULFURE SULFUREUX (I ₂ S)
PAGEAU FRAIS		-
PAGEAU CONSERVÉ À +4°C	15 JOURS	+
	30 JOURS	+
	45 JOURS	+
	60 JOURS	+
PAGEAU CONSERVÉ À -10°C	15 JOURS	+
	30 JOURS	+
	45 JOURS	+
	60 JOURS	+
PAGEAU CONSERVÉ À 18°C	15 JOURS	+
	30 JOURS	+
	45 JOURS	+
	60 JOURS	+

Tableau 12 /: Production d'hydrogène Sulfureux chez le Pageau en fonction de la température et la durée de Conservation.

+ : Présence d'I₂S.

- : Absence d'I₂S.

.../...

de conservation pendant 15 , 30 , 45 , et 60 Jours et de même pour le Pageau.

A la conservation à -10°C et -18°C nous avons constaté une absence d' H_2S réapparaît après 30 , 45 et 60 Jours chez la Sardine.

Chez le Pageau et à la conservation à -10°C et -18°C le résultat était positif dès les 15 premiers Jours. (présence d' H_2S). et de même après 30 , 45 et 60 Jours de conservation.

2.4- L'indole.

Le test de L'indole effectué sur la Sardine fraîche a donné un résultat négatif (absence d'indole). Ce même test réalisé sur le Pageau frais ainsi que la Sardine et Pageau conservés à des températures de $+4^{\circ}\text{C}$; -10°C et -18°C pendant 15, 30, 45 et 60 Jours montre la présence d'indole dans chaque cas (tableaux 13, 14).

2.5- Les protéines/ :

2.5.15- Les Proteines Totales:

Nous avons remarqué une diminution de la teneur en protéines lors de la conservation des poissons pendant 60 Jours (Sardine et Pageau).

Pour la Sardine la diminution la plus importante est remarquée chez les individus réfrigérés à $+4^{\circ}\text{C}$ d'où le taux des protéines est passé de 18.92g (Sardine fraîche) à 14.25g après 60 Jours de conservation. Par contre ce taux est passé à 16.8g et 17.73 g après 60 Jours à -10°C et -18°C .

Le même phénomène est observé chez le pageau où le taux des protéines est passé de 18.9 (Pageau frais) à 12.68 après 60 Jours de conservation à $+4^{\circ}\text{C}$. Alors qu'il est passé à 17.03 et 17.81 après 60 Jours de conservation respectivement à -10°C et -18°C . Cette diminution est la cause de la dégradation des protéines due à l'activité de certaines enzymes ou bactéries qui ne sont pas inhibées par le froid.

2.5.20- Les protéines Solubles.

Les protéines solubles sont les plus sensibles à l'altération enzymatique, chimique et microbiologique. Ces protéines sont généralement l'actine, myosine,

		PRODUCTION D'INDOLE
SARDINE FRAICHE		-
SARDINES CONSERVES à + 4°C	15 JOURS	+
	30 JOURS	+
	45 JOURS	+
	60 JOURS	+
SARDINES CO. SUIVRES à - 10°C	15 JOURS	+
	30 JOURS	+
	45 JOURS	+
	60 JOURS	+
SARDINES CONSERVES à - 10°C	15 JOURS	+
	30 JOURS	+
	45 JOURS	+
	60 JOURS	+

Tableau 13 /: Production d'indole chez la Sardinie en fonction de la température et la durée de Conservation.

+ Présence d'Indole

- Absence d'Indole

		PRODUCTION D'INDOLE
PAGEAU FRAIS		+
PAGEAU CONSERVEE à + 4°C	15 JOURS	+
	30 JOURS	+
	45 JOURS	+
	60 JOURS	+
PAGEAU CONSERVEE à - 10°C	15 JOURS	+
	30 JOURS	+
	45 JOURS	+
	60 JOURS	+
PAGEAU CONSERVEE à - 18°C	15 JOURS	+
	30 JOURS	+
	45 JOURS	+
	60 JOURS	+

Tableau 14 / : Production d'indole chez le pageau en fonction de la température et le durée de Conservation.

+ Presence d'Indole
 - Absence d'Indole

	AZOLE (g/100g de muscle)	Proteines Totales (g/100g de muscle)
SARDINE FRAICHE	3.02	18.92
SARDINE CONSERVEE à 4°C 15 JOURS	2.90	18.12
30 JOURS	2.69	16.81
45 JOURS	2.49	15.56
60 JOURS	2.28	14.25
SARDINE CONSERVEE à - 10°C 15 JOURS	2.93	18.31
30 JOURS	2.80	17.50
45 JOURS	2.78	17.43
60 JOURS	2.69	16.8
SARDINE CONSERVEE à - 18°C 15 JOURS	3.0	18.75
30 JOURS	2.91	18.2
45 JOURS	2.86	17.9
60 JOURS	2.83	17.73

Tableau 15 / Evolution de la Teneur en proteines totales de la chair de la Sardine en Fonction de la Temperature et la durée de Conservation.

		AZOLE TOTAL (g/100 g de muscle)	PROTEINES TOTALES (g/100 g de muscle)
PAGEAU FRAIS		3.02	18.9
PAGEAU CONSERVE à + 4°C	15 JOURS	2.77	17.3
	30 JOURS	2.66	16.63
	45 JOURS	2.4	15.01
	60 JOURS	2.03	12.68
PAGEAU CONSERVE à - 10°C	15 JOURS	2.94	18.36
	30 JOURS	2.81	17.5
	45 JOURS	2.75	17.22
	60 JOURS	2.72	17.03
PAGEAU CONSERVE à - 18°C	15 JOURS	2.97	18.6
	30 JOURS	2.93	18.3
	45 JOURS	2.87	17.94
	60 JOURS	2.84	17.81

Tableau 16 /: Evolution de la Teneur en proteines totales de la chair du pageau en Fonction de la Temperature et la durée de Conservation.

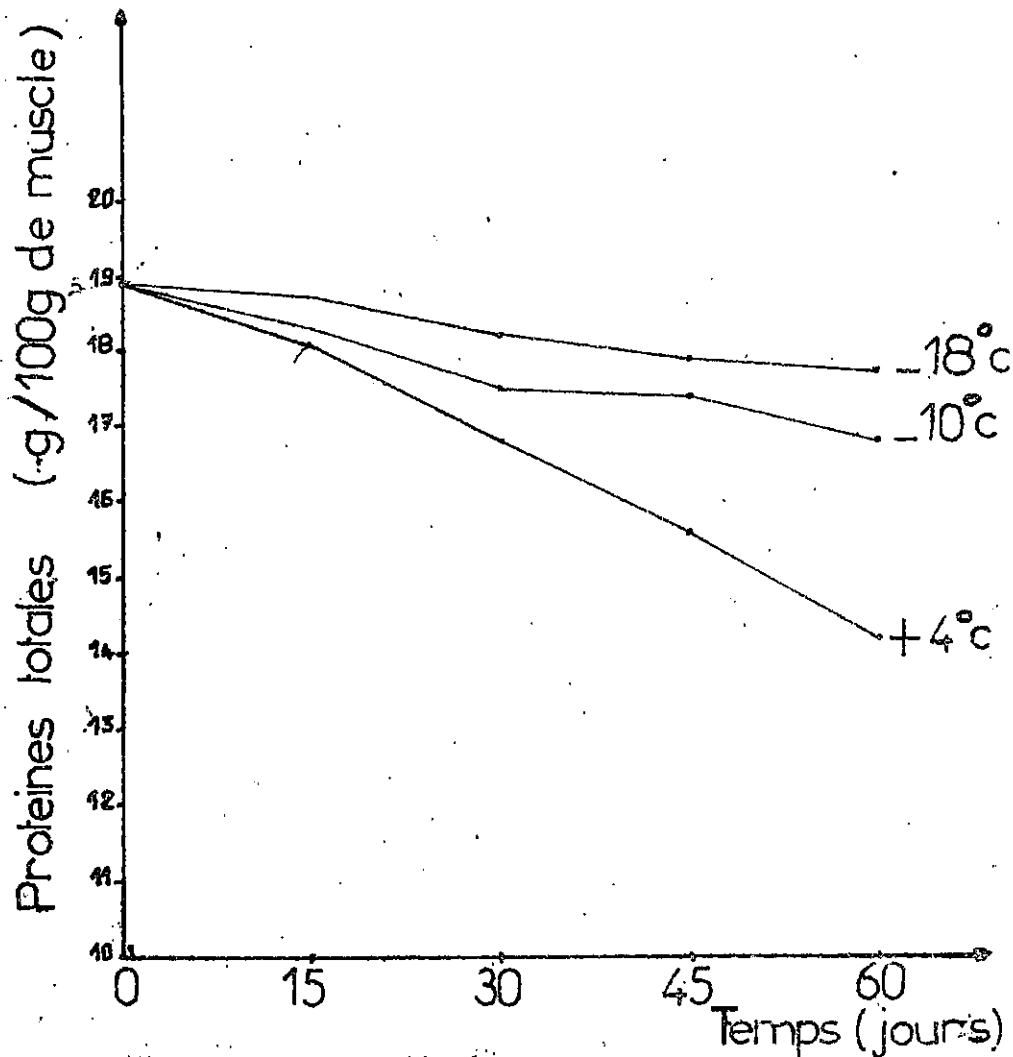


Figure 5 /: Evolution de la teneur en proteines totales de la chair de Sardine en fonction de la temperature et la durée de conservation

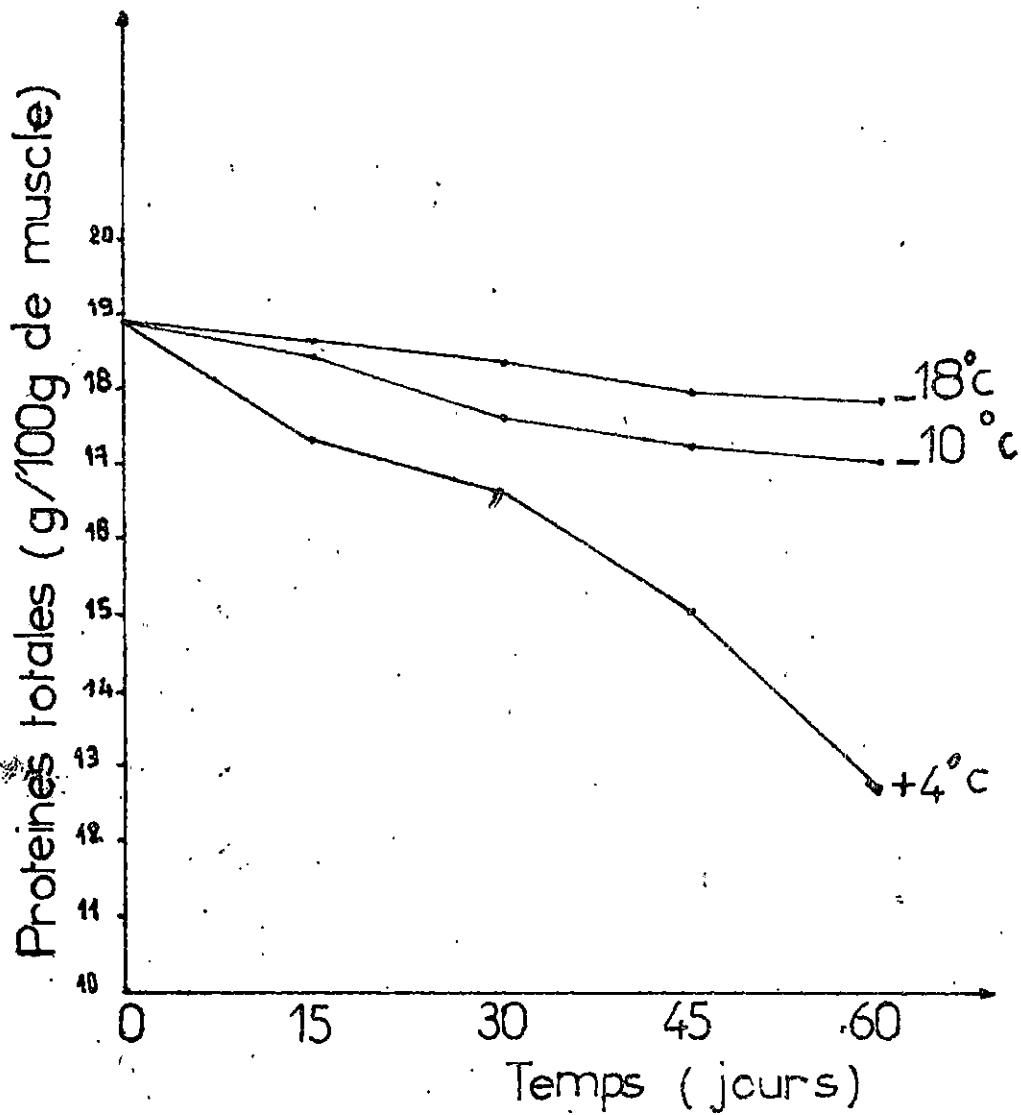


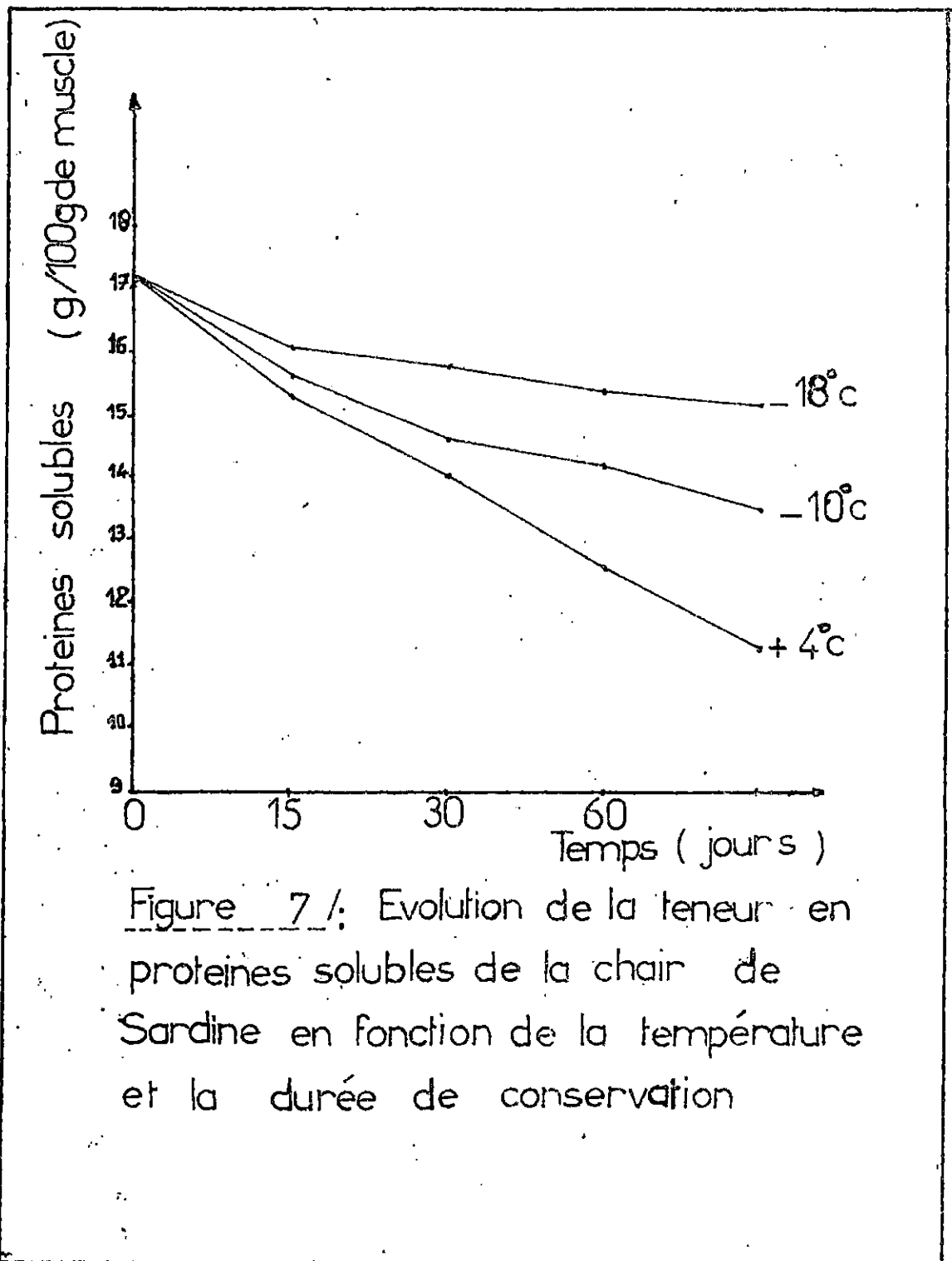
Figure 6 Evolution de la teneur en protéines totales de la chair du Pageau en fonction de la température et la durée de conservation

		AZGLE EN (g/100g de muscle	PROTEINES SOLUBLES (g/100g de muscle)
SARDINE FRAICHE		2.75	17.20
SARDINE REFRIGERE à + 4°C	15 JOURS	2.45	15.30
	30 JOURS	2.24	14.03
	45 JOURS	2.02	12.05
	60 JOURS	1.81	11.30
SARDINE CONSERVEE à - 10°C	15 JOURS	2.49	15.6
	30 JOURS	2.34	14.63
	45 JOURS	2.27	14.2
	60 JOURS	2.16	13.52
SARDINE CONSERVEE à - 18°C	15 JOURS	2.57	16.05
	30 JOURS	2.52	15.78
	45 JOURS	2.46	15.40
	60 JOURS	2.43	15.21

Tableau : 17 / : Evolution de la teneur en proteines solubles de la chair de Sardine en Fonction de la Temperature et la durée de Conservation.

		AZOLE EN (g/100g de muscle)	PROTEINES SOLUBLES (g/100g de muscle)
PAGEAU FRAIS		2.69	16.81
PAGEAU REFRIGERE à + 4°C	15 JOURS	2.38	14.90
	30 JOURS	2.22	13.88
	45 JOURS	1.93	12.09
	60 JOURS	1.59	09.92
PAGEAU CONSERVE à - 10°C	15 JOURS	2.53	15.81
	30 JOURS	2.40	15.01
	45 JOURS	2.31	14.42
	60 JOURS	2.21	13.84
PAGEAU CONSERVE à - 18°C	15 JOURS	2.61	16.3
	30 JOURS	2.54	15.9
	45 JOURS	2.46	15.37
	60 JOURS	2.43	15.18

Tableau 2.18 / Evolution de la teneur en proteines solubles de la chair du pageau en fonction de la Temperature et la durée de Conservation.



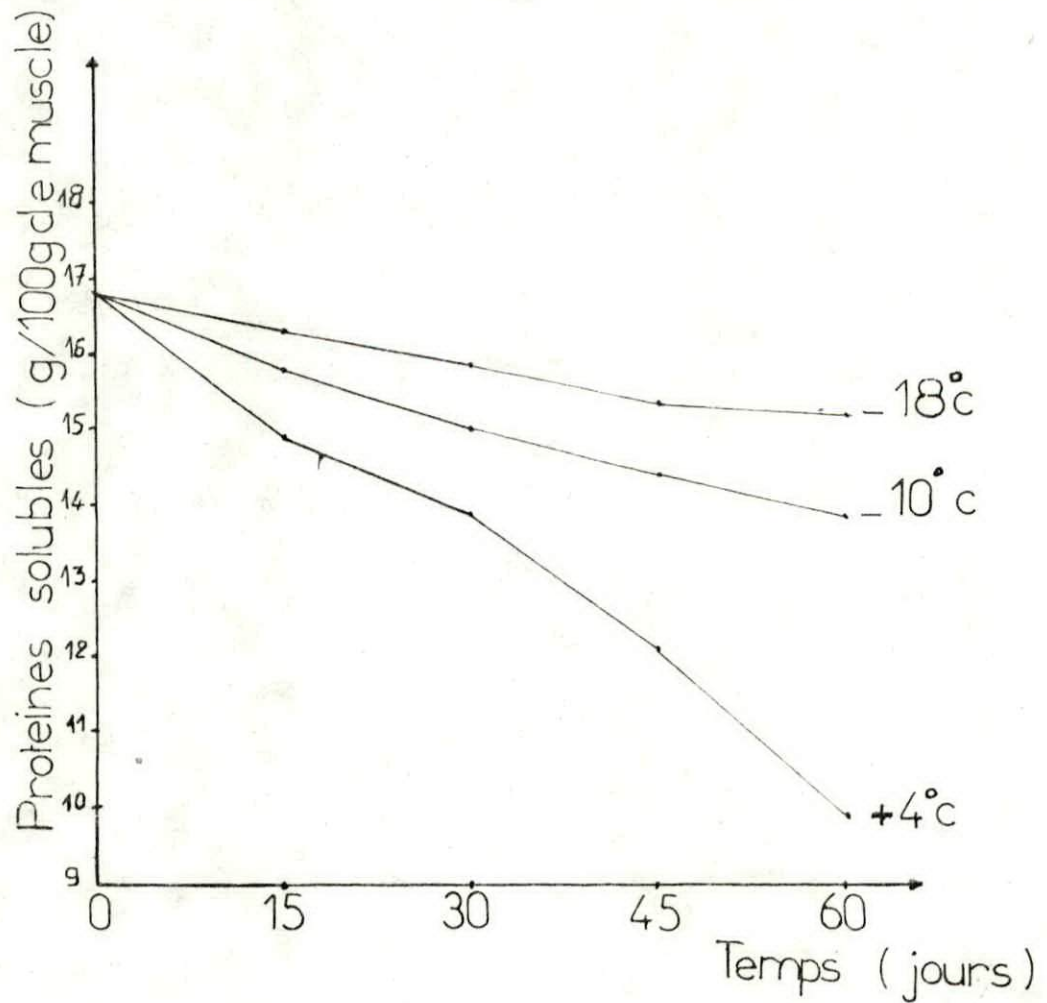


Figure 8 : Evolution de la teneur en protéines solubles de la chair du Pageau en fonction de la température et la durée de conservation

tripomposine et d'autres composés.

Après 60 Jours de conservation à des températures de $+4^{\circ}\text{C}$, -10°C , -18°C nous avons remarqué une diminution de la teneur en protéines solubles chez la Sardine que chez le Pageau (voir tableaux 17, 18).

Pour la Sardine la teneur est de 17.2 g (Sardine fraîche) passé à 11.3g après 60 Jours de conservation à $+4^{\circ}\text{C}$. Chez le Pageau la teneur est de 16.81 (Pageau frais) passé à 9.92 dans les mêmes conditions.

A -10°C le taux de protéines est passé à 13.52 chez la Sardine et à 13.84 chez le Pageau après 60 Jours de conservation. Par contre à -18°C il est passé à 15.21 chez la sardine et à 15.18 chez le Pageau.

La solubilité des protéines diminue au cours du stockage et selon les conditions de conservations.

2.6% - Azote Basique Volatil Total (ABVT) :

Nous avons remarqué une augmentation importante du taux d'ABVT dès les 15 premiers jours de conservation (voir tableaux 19, 20).

A $+4^{\circ}\text{C}$ le taux d'ABVT est passé de 15.6 mg/100 g de chair de (Sardine fraîche) à 43.66 mg/100g de chair de Sardine conservée 60 Jours. Chez le pageau il est passé de 16.11 mg/100 g de chair (Pageau frais) à 47.7 mg/100g de chair dans les mêmes conditions de conservation.

A -10°C le taux est passé à 22.69 et 23.1 mg après 60 Jours de conservation. Alors qu'à -18°C le taux d'ABVT est passé à 19.41 mg chez la Sardine et à 20.21 chez le Pageau après 60 Jours de conservation.

Les chiffres cités montrent que le le taux d'ABVT est plus important lors de la conservation à $+4^{\circ}\text{C}$ que pour la conservation à -10°C et -18°C cela est dû à la présence d'une quantité d'eau non cristallisée ce qui permet à certaines réactions chimiques et microbiologique de s'activer.

.../...

		ABVT (mg / 100g de muscle)
SARDINE FRAICHE		15.6
SARDINE CONSERVEE à + 4° C	15 JOURS	27.83
	30 JOURS	33.79
	45 JOURS	37.48
	60 JOURS	43.66
SARDINE CONSERVEE à - 10° C	15 JOURS	19.24
	30 JOURS	19.73
	45 JOURS	20.62
	60 JOURS	22.69
SARDINE CONSERVEE à - 18° C	15 JOURS	18.14
	30 JOURS	19.19
	45 JOURS	19.1
	60 JOURS	19.41

Tableau 19 / : Evolution du taux d'ABVT chez la Sardine en fonction de la Température et la durée de Conservation.

* ABVT : Azote basique volatil total.

		A B V T (mg/ 100g de muscle)
PAGEAU FRAIS		15.11
PAGEAU CONSERVÉE à + 4°C	15 JOURS	28.52
	30 JOURS	36.7
	45 JOURS	44.12
	60 JOURS	47.7
PAGEAU CONSERVÉE à - 10°C	15 JOURS	19.14
	30 JOURS	20.40
	45 JOURS	22.29
	60 JOURS	23.63
PAGEAU CONSERVÉE à - 18°C	15 JOURS	18.46
	30 JOURS	19.65
	45 JOURS	20.09
	60 JOURS	20.1

Tableau 20 / Evolution du taux d'ABVT de la chair du pageau en fonction de la Température et la durée de Conservation.

		A B V T (mg/ 100g de muscle)
PAGEAU FRAIS		15.11
PAGEAU CONSERVEE à + 4°C	15 JOURS	28.52
	30 JOURS	36.7
	45 JOURS	44.12
	60 JOURS	47.7
PAGEAU CONSERVEE à - 10°C	15 JOURS	19.14
	30 JOURS	20.40
	45 JOURS	22.29
	60 JOURS	23.63
PAGEAU CONSERVEE à - 18°C	15 JOURS	18.46
	30 JOURS	19.65
	45 JOURS	20.09
	60 JOURS	20.1

Tableau 20 / : Evolution du taux d'ABVT de la chair du pageau en fonction de la Température et la durée de Conservation.

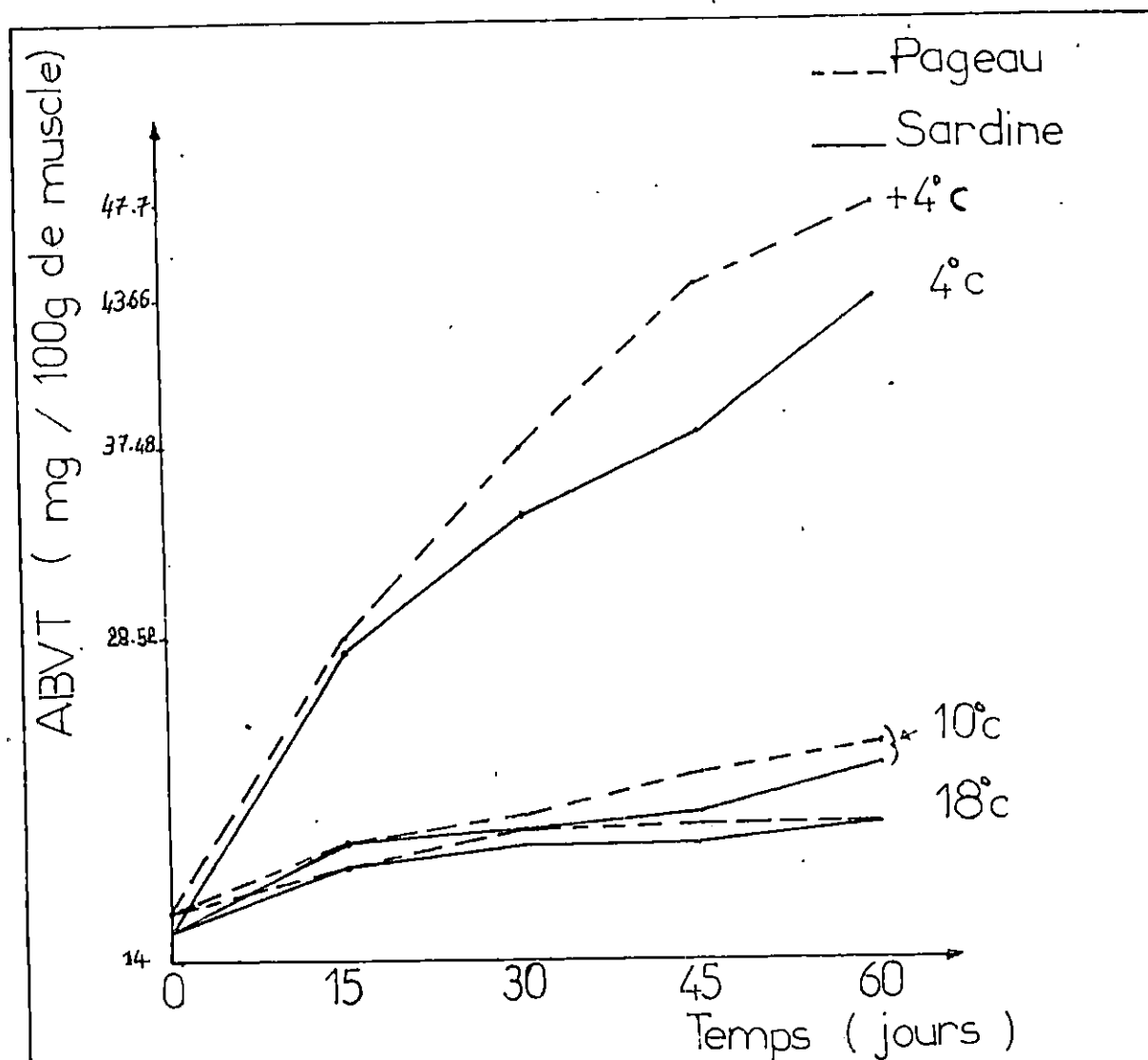


Figure 9 / Evolution de la teneur en ABVT de la chair de la Sardine et du Pageau en fonction de la température et la durée de conservation.

ABVT : azote basique volatile total.

2.7. Triméthylamine / Est un produit de dégradation provenant de la TMAO (Oxyde de triméthylamine) sous l'effet de Certaines bactéries dégradatrices. (M. SAINCLIVIER, 1983).

Nous avons remarqué une augmentation de la qualité du TMA dès les premiers jours de conservation (voir tableaux 21, 22) surtout à la réfrigération à + 4°C ; où le taux est passé de 0,27 mg /100g de chair chez la Sardine fraîche à 19,43 mg/100 g de chair après 60 Jours de conservation. Chez le Pageau il est passé de 0,4 mg /100g de chair (Pageau frais) à 19,77 mg/ 100g de chair après 60 Jours de conservation.

A -10°C le taux est passé à 10,25 mg chez la Sardine et à 9,73 mg chez le Pageau après 60 Jours de conservation. Alors qu'il est passé à 8,18 chez la Sardine et à 8,49 mg chez le Pageau après la même période de conservation à - 18°C.

Le froid permet d'arrêter la croissance des micro-organismes qui jouent le plus grand rôle dans la dégradation de ces produits et aboutissent à leur putréfaction (par élaboration des enzymes décarboxyliques).

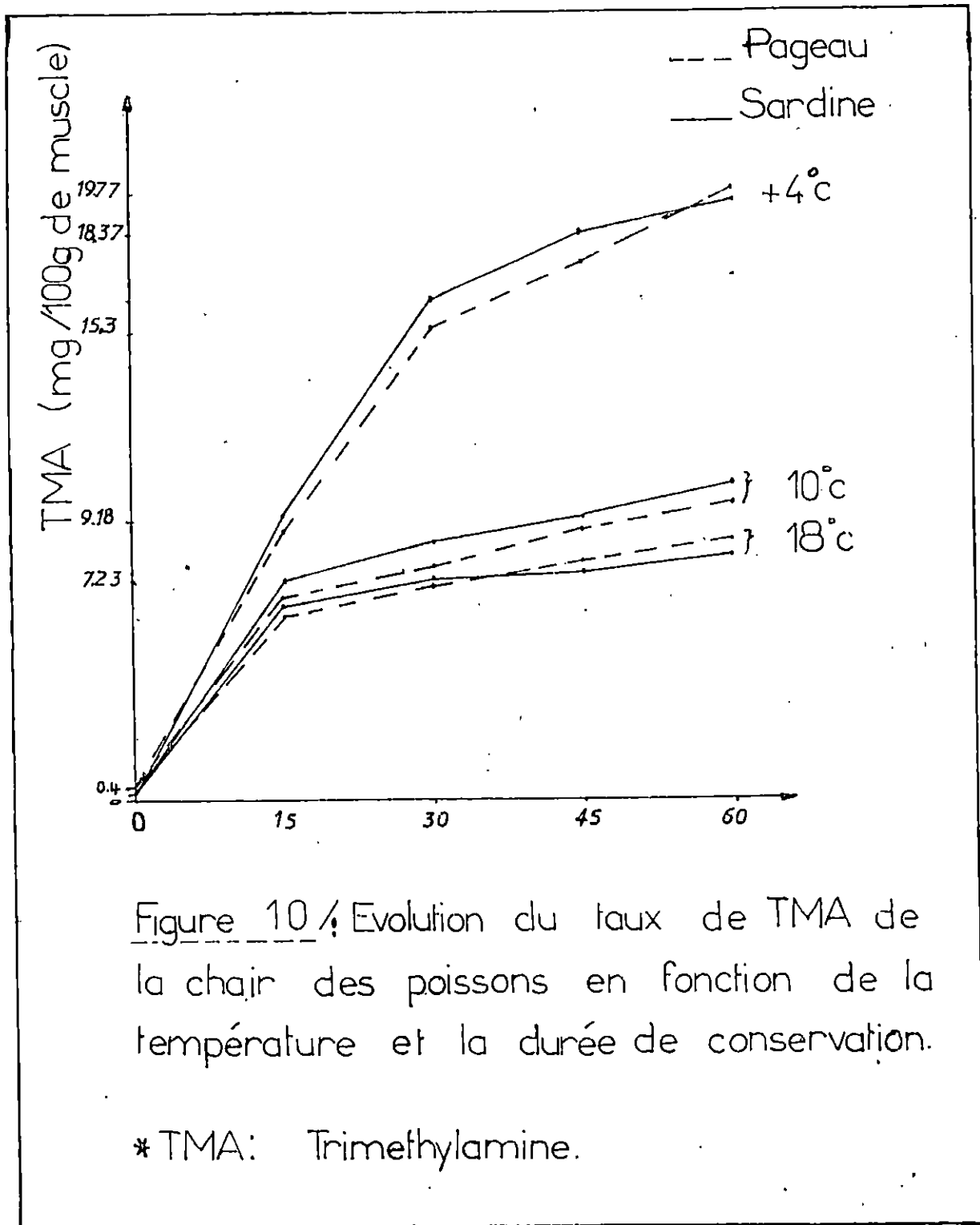
		T.M.A. (mg/100g de muscle)
SARDINE FRAICHE		0.27
SARDINE CONSERVEE à + 4°C	15 JOURS	9.18
	30 JOURS	16.2
	45 JOURS	18.37
	60 JOURS	19.43
SARDINE CONSERVEE à - 10°C	15 JOURS	7.23
	30 JOURS	8.5
	45 JOURS	9.3
	60 JOURS	10.25
SARDINE CONSERVEE à - 18°C	15 JOURS	6.51
	30 JOURS	7.23
	45 JOURS	7.67
	60 JOURS	8.18

Tableau 21 / : Evolution du taux de la TMA de la chair de la Sardine en Fonction de la Température et la durée de Conservation.

* T.M.A. Triméthylamine.

		T.M.A. (Mg/100g de muscle)
PAGEAU FRAIS		0.4
PAGEAU CONSERVEE à + 4°C	15 JOURS	8.9
	30 JOURS	15.3
	45 JOURS	17.38
	60 JOURS	19.77
PAGEAU CONSERVEE à - 10 °C	15 JOURS	6.7
	30 JOURS	7.65
	45 JOURS	8.9
	60 JOURS	9.73
PAGEAU CONSERVEE à - 18 °C	15 JOURS	6.3
	30 JOURS	7.21
	45 JOURS	7.73
	60 JOURS	8.49

Tableau 22 / Evolution du taux de la T.M.A. de la chair du pageau en
Fonction de la Température et la durée de Conservation.



3/ - QUALITE MICROBIOLOGIQUE / :

La congélation des aliments protéiques est avant tout un moyen de les conserver, il est évidemment très important d'en connaître les conséquences sur la survie des microorganismes qu'ils contiennent avant leur traitement c'est à dire les microorganismes qui sont susceptibles d'altérer la qualité de l'aliment par dégradation, ou par synthèse des produits modifiant l'odeur ou la ~~flaveur~~ d'une part et d'autre part les germes pathogènes.

En tant que structure cellulaire, les microorganismes subissent des altérations, pour cela nous envisageons seulement l'aspect dynamique c'est à dire les manifestations vitales des cellules.

Les altérations subies par les microorganismes se font durant :

- la réfrigération
- la congélation
- le stockage
- la décongélation

Après avoir procédé aux analyses citées ci-dessus les résultats sont représentés sous forme de tableaux et graphes. Les résultats sont exprimés en UFC (unités formantes de colonie), en grammes (g) ou à l'unité de surface (cm²),

La température moyenne de stockage du poisson au cours des 2 mois (+ 4°C, - 10°C, - 18°C).

La qualité bactériologique du poisson frais (tableaux 23,24) est caractérisé par :

- L'absence de streptocoques fécaux, clostridium sulfite-réducteurs, salmonelles et vibrion, cette caractéristique est restée la même après 60 jours de conservation à des basses températures (tableaux 23,24,25,26,27,28,29,30).

Les tableaux 25 et 26 montrent l'évolution microbienne de la sardine, et du pageau conservé à + 4°C en fonction du temps, montrent qu'au cours du stockage, la qualité hygiénique du poisson diminue, ainsi après 15 jours de conservation le nombre des germes aérobies mésophiles est de $1,35 \cdot 10^4$ N/g

	Germes aérobies mésophi- les	Germes aérobies psychro- philes	Strepto- coques fécaux	Clostri- diums sulfito- reduc- teurs	Salmon- ella	Vibrio choleri- que
Surface N/cm ²	1,5.10 ³	1,5.10 ²	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
Muscle N/g	8,5.10 ³	3,1.10 ²	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.

Tableau 23 / : La flore bactérienne de la sardine fraîche .

	Germes aérob- ies mésoph- iles	Germes aérobies psychro- philes	Strepto- coques fécaux	Clostri- diums sulfito- reduc- teurs	Salmon- ella	Vibrio cholerique
Surface N/cm ²	1,57.10 ³	3,5.10 ²	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
Muscle N/g	4,7.10 ³	1,4.10 ²	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.

Tableau 24 / : La flore bactérienne du pageau frais .

Note / : (1) : Absence dans 5cm² de la surface .
(2) : Absence dans 5g du muscle .

pour la sardine et $5,85 \times 10^5$ N/G pour le pageau, et à 60 jours de conservation il est de $2,5 \cdot 10^6$ N/G pour la sardine et $1,75 \times 10^6$ N/G pour le pageau, il y a augmentation de nombre des germes d'un facteur de 10.

Quand à la flore psychrophile après 15 jours de conservation elle est de $1,3 \cdot 10^4$ N/G dans le muscle de sardine et $3,5 \cdot 10^4$ pour le pageau, et après 60 jours de conservation la flore psychrophile est de $1,5 \cdot 10^6$ N/G pour la sardine et le pageau.

Il apparaît qu'après réfrigération à $+ 4^\circ\text{C}$ la flore mésophile a franchi un seul cycle logarithmique, alors que la flore psychrophile à deux cycles logarithmique par rapport à la flore initiale.

Après congélation à $- 10^\circ\text{C}$ (tableaux 27, 28) la flore aérobie mésophile devient sensiblement décroissante après 30 jours de conservation le nombre des germes passe d'une puissance de 4 à une puissance de 3 au 60ème jours.

Quand à la flore psychrophile le nombre des germes passe d'une puissance de 4 à une puissance de 2 pour la sardine (de 30ème jours au 60ème jours, le nombre passe de $4,5 \cdot 10^4$ N/G dans le muscle à $3,5 \cdot 10^2$ N/G), et d'une puissance de 3 à une puissance de 1 pour le pageau donc il y a 2 cycles logarithmique qui sont franchis.

Après congélation à $- 18^\circ\text{C}$ l'étude des tableaux (29, 30) montre que :

- Il y a une augmentation en nombre de la flore aérobie mesophile durant les 15 premiers jours par rapport à la flore initiale.

- une diminution en nombre de la flore après le 15ème jours avec la durée de conservation, elle passe d'une puissance de 4 au 15ème jours à une puissance de 3 au 60ème jours de conservation pour la sardine et le pageau, il y a un cycle logarithmique qui est franchi.

...../.....

Durée de conservation		Germès aérobies mésophiles	Germès aérobies psychrophiles	Streptocoques fécaux	Clostridium sulfite-réducteurs	Salmonella	Vibrio cholérique
15 Jours	Surface N/cm ²	1,05.10 ⁵	1,2.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	1,35.10 ⁴	1,3.10 ⁴	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.
30 Jours	Surface N/cm ²	2,7.10 ⁵	2,4.10 ⁴	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	3,0.10 ⁵	2,4.10 ⁵	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.
45 Jours	Surface N/cm ²	6,4.10 ⁵	8,0.10 ⁴	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	7,5.10 ⁵	5,3.10 ⁵	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.
60 Jours	Surface N/cm ²	2,5.10 ⁶	7,0.10 ⁵	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	2,5.10 ⁶	1,5.10 ⁶	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.

Tableau 25 / : Evolution bacterienne de la sardine conservée à + 4° C en fonction du temps.

Note /: (1): Absence dans 5cm² de la surface.

(2): Absence dans 5g du muscle.

Durée de conservation		Germes aérobies mésophiles	Germes aérobies psychrophiles	Streptocoques fécaux	Salm-nella	Clostridium sulfite réducteurs	Vibrio cholérique
15 Jours	Surface N/cm ²	9,0.10 ⁶	5,5.10 ⁴	Abs.	Abs. (1)	Abs.	Abs.
	Muscle N/g	7,6.10 ⁵	3,5.10 ⁴	Abs.	Abs. (2) ₅	Abs.	Abs.
30 Jours	Surface N/cm ²	2,5.10 ⁵	8,5.10 ⁴	Abs.	Abs. (1)	Abs.	Abs.
	Muscle N/g	1,4.10 ⁵	7,5.10 ⁴	Abs.	Abs. (2)	Abs.	Abs.
45 Jours	Surface N/cm ²	3,35.10 ⁵	9,5.10 ⁴	Abs.	Abs. (1)	Abs.	Abs.
	Muscle N/g	5,85.10 ⁵	9,5.10 ⁴	Abs.	Abs. (2)	Abs.	Abs.
60 Jours	Surface N/cm ²	8,5.10 ⁵	2,6.10 ⁴	Abs.	Abs. (1)	Abs.	Abs.
	Muscle N/g	1,75.10 ⁶	1,5.10 ⁶	Abs.	Abs. (2)	Abs.	Abs.

Tableau 26 / Evolution bactérienne du pageau conservé à + 4° C en fonction du temps .

Note /: (1): Absence dans 5cm² de la surface .

(2): Absence dans 5g de muscle .

Durée de conservation		Germes aérobies mesophiles	Germes aérobies psychrophiles	Strep-tocoques fécaux	Clostridium sulfite-réducteurs	Salmonella	Vibrio cholérique
15 Jours	Surface N/cm ²	2,8.10 ⁴	3,5.10 ⁴	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	2,09.10 ⁴	6,5.10 ⁴	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.
30 Jours	Surface N/cm ²	1,0.10 ⁴	6,0.10 ⁴	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	6,0.10 ³	4,5.10 ⁴	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.
45 Jours	Surface N/cm ²	4,8.10 ³	7,0.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	7,7.10 ⁴	1,1.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.
60 Jours	Surface N/cm ²	2,5.10 ⁴	4,0.10 ²	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	1,12.10 ³	3,5.10 ²	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.

Tableau 27 / : Evolution bactérienne de la sardine conservée à - 10°C en fonction du temps .

Note / :
 (1): Absence dans 5cm² de la surface.
 (2): Absence dans 5g du muscle .

Durée de conservation		Germes aérobies mesophiles	Germes aérobies psychrophiles	Streptocoques lactiques	Clostridium sulfite réducteurs	Salmonella	Vibrio cholérique
15 Jours	Surface N/cm ²	2,1.10 ⁴	3,5.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	1,02.10 ⁴	9,5.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.
30 Jours	Surface N/cm ²	5,1.10 ³	1,4.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	2,07.10 ³	8,5.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.
45 Jours	Surface N/cm ²	1,75.10 ³	300	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	3,5.10 ³	4,0.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.
60 Jours	Surface N/cm ²	1,2.10 ³	320	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	2,95.10 ³	350	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.

Tableau 28 / : Evolution bactérienne du pageau conservé à 6- 10° C en fonction du temps .

Note / : (1) : Absence dans 5cm² de la surface :
(2) : Absence dans 5g du muscle .

Durée de conservation		Germes	Germes	Strép-	Clostri-	Salmo-	Vibrio
		aerobies mésophiles	aerobies psychrophiles	tocoques fécaux	diums sulfito- réducteurs	nella	chole- rique
15 jours	Surface N/cm ²	3,75.10 ³	9,0.10 ⁴	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	9,2.10 ³	7,5.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.
30 jours	Surface N/cm ²	6,45.10 ³	6,5.10 ⁴	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	3,5.10 ³	5,5.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.
45 jours	Surface N/cm ²	1,35.10 ³	4,5.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	2,15.10 ³	4,5.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.
60 jours	Surface N/cm ²	6,75.10 ²	3,5.10 ²	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	7,6.10 ²	1,1.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.

Tableau 29 / : Evolution bacterienne de la sardine
conservée à -18° C en fonction du
temps.

Note / : (1): Absence dans 5 cm² de la surface.
(2): Absence dans 5 g du muscle.

Durée de conservation		Germes aérobies mésophiles	Germes aérobies psychrophiles	Streptocoques fécaux	Clostridium sulfite-réducteurs	Salmonella	Vibrio cholérique
15 Jours	Surface N/cm ²	5,2.10 ⁴	4,5.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	2,2.10 ⁴	4,0.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.
30 Jours	Surface N/cm ²	2,9.10 ⁴	3,0.10 ⁴	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	1,8.10 ⁴	9,5.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
45 Jours	Surface N/cm ²	2,2.10 ⁴	4,3.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(1)	Abs.
	Muscle N/g	6,7.10 ⁵	3,5.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.
60 Jours	Surface N/cm ²	1,9.10 ³	1,3.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(1)	
	Muscle N/g	2,2.10 ³	2,0.10 ³	Abs.	Abs.	Abs.(2)	Abs.

Tableau 30 / Evolution bacterienne du pageau conservé à -18° C en fonction du temps .

Note / : (1) : Absence dans 5 cm² de la surface .

(2) : Absence dans 5 g de muscle .

Quand à la flore psychrophile le nombre des germes passe d'une puissance de 3 à la puissance de 4 de 30^{ème} jours au 60^{ème} jours de conservation pour les deux espèces (sardine et pageau).

L'augmentation de la flore de poisson durant les premiers 15 jours de conservation aux différentes températures (la réfrigération à + 4°C la congélation à - 10°C et - 18°C) pourrait être due au libre passage des germes des régions les plus contaminée (de la migration passive de la surface vers le muscle) après destruction des membranes soit par effet mécanique tel que la formation de cristaux de glace où par un effet chimique (dénaturation des protéines).

Dès les 15 premiers jours de congélation à - 10°C et - 18°C, nous avons constaté une légère diminution en nombre de la flore totale, cette régression résulte de la destruction des micro-organismes par la congélation : choc thermique ou formation de la glace.

Par choc thermique : les bactéries sont détruites par une soudaine chute de leur température normale de croissance. jusqu'aux environs de 0°C.

Par formation de la glace : au cours de la congélation la glace peut se former soit à l'extérieur, soit à l'intérieur des cellules. Les cristaux de glace agissent par compression où perforation des cellules.

(Rosset et coll, 1974)

Par contre chez le poisson réfrigéré à + 4°C on a constaté une augmentation forte en nombre de la flore cette développement prouve leur résistance au température de réfrigération, et peut engendrer des dommages à une longue durée de conservation.

La congélation marque l'absence de tous les germes de test sauf la flore aérobie mésophile et psychrophile dont leur nombre va en décroissance au cours de temps.

En somme malgré l'inhibition partielle des micro-organismes par la ré réfrigération, l'activité de dégradation

Flore aérobie mesophile	Sardine fraîche	Sardine conservée à + 4° C				Sardine conservée à - 10° C				Sardine conservée à - 18° C			
		15 Js (*)	30 Js	45 Js	60 Js	15 Js	30 Js	45 Js	60 Js	15 Js	30 Js	45 Js	60 Js
Surface Log N	3,17	4,78	5,23	5,8	6,4	4,44	4,01	3,68	3,12	3,57	3,8	3,13	2,82
Muscle Log N	2,92	4,13	4,21	5,87	6,39	4,32	3,78	2,87	3,04	3,96	3,54	3,41	2,39

Tableau 31 / : Evolution de la flore aérobie mesophile de la sardine en fonction de la température et la durée de conservation (Resultats en Log de nombre).

Flore aérobie mesophile	Pageau frais	Pageau conservé à + 4° C				Pageau conservé à - 10° C				Pageau conservé à - 18° C			
		15 Js (*)	30 Js	45 Js	60 Js	15 Js	30 Js	45 Js	60 Js	15 Js	30 Js	45 Js	60 Js
Surface Log N	3,23	4,96	5,39	5,52	5,92	4,2	3,7	3,24	3,07	4,72	4,46	4,35	3,29
Muscle Log N	3,67	5,14	5,76	6,24	4,00	3,43	3,54	3,48	4,34	4,26	3,82	3,82	3,35

Tableau 32 / : Evolution de la flore aérobie mésophile du pageau en fonction de la temperature et la durée de conservation . (Resultats exprimés en Log de nombre des germes).

(*) : Durée de conservation en jours.

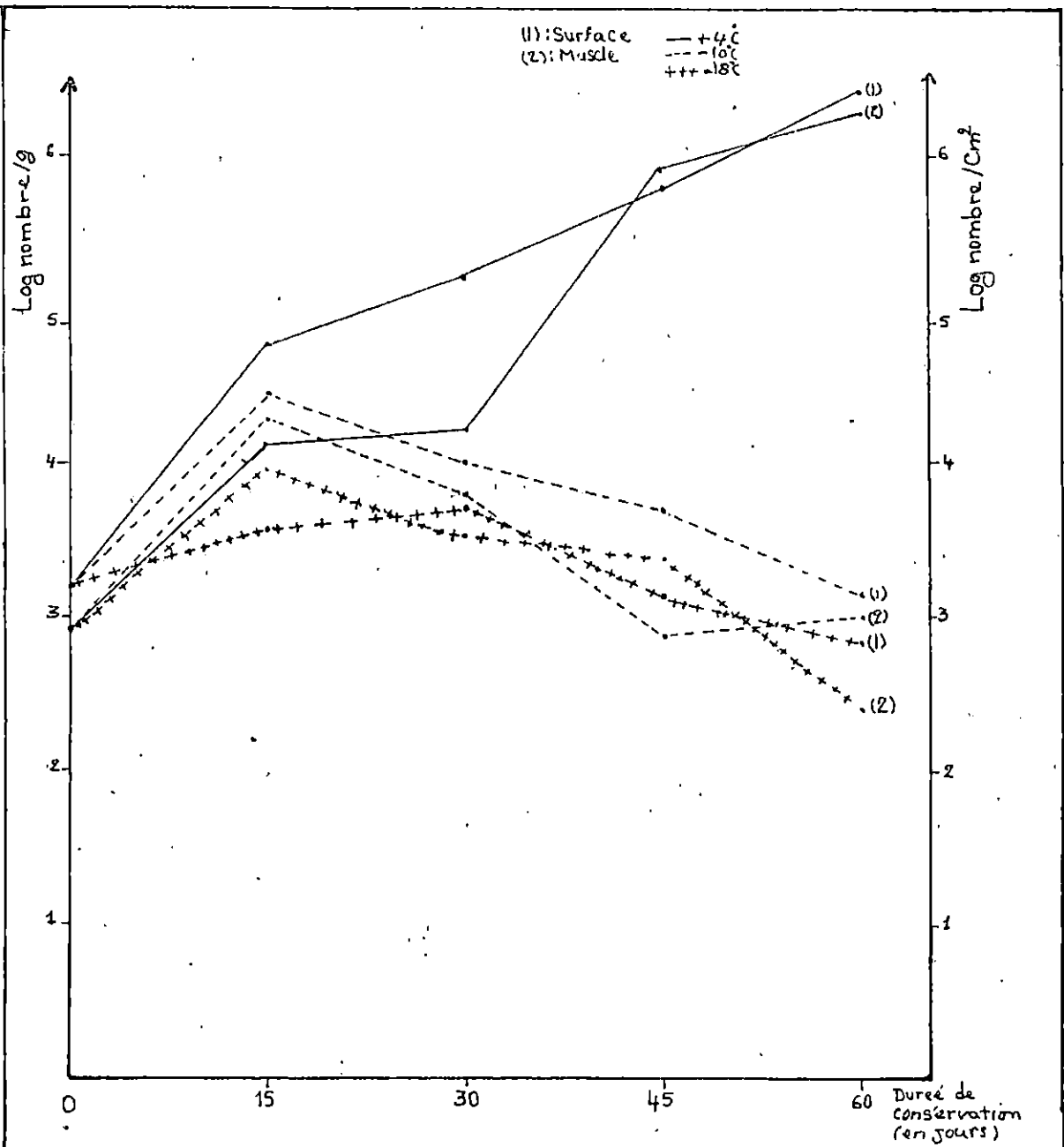


Figure 11 Evolution des germes aerobies mesophile de la Sardine en fonction de la temperature et la duree de conservation

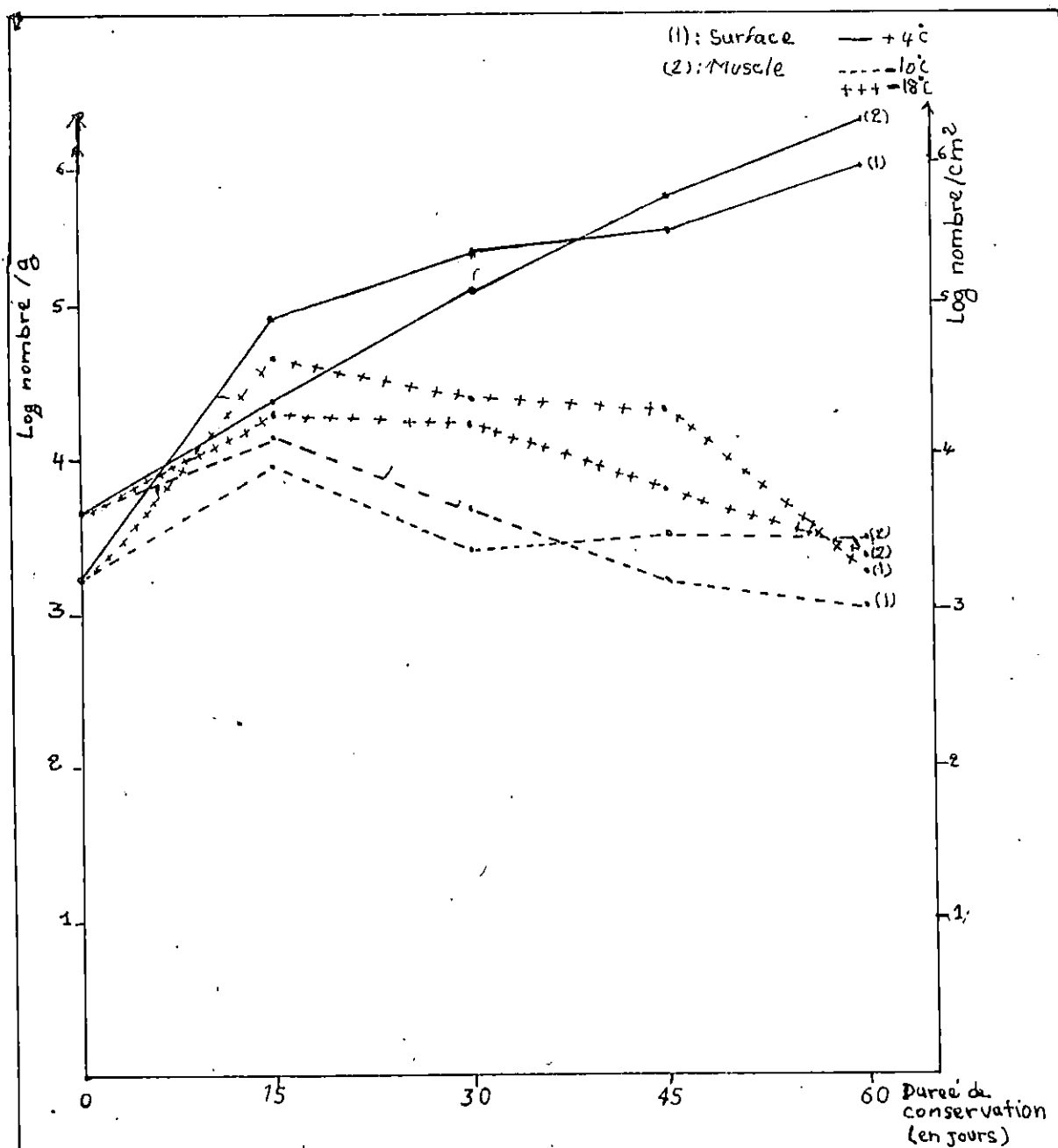


Figure 12: Evolution des germes aerobies mesophiles du Pageau en fonction de la temperature et la durée de conservation.

Flore aérobie psychro- phile	Sardine fraîche	Sardine conservée à + 4° C				Sardine conservée à - 10° C				Sardine conservée à - 18° C			
		15 Js	30 Js	45 Js	60 Js	15 Js	30 Js	45 Js	60 Js	15 Js	30 Js	45 Js	60 Js
Surface Log N	2,17	3,07	4,38	4,9	5,84	4,92	4,77	3,84	2,60	4,95	4,81	3,65	2,54
Muscle Log N	1,49	4,11	5,38	5,72	6,17	4,81	4,65	3,04	2,54	3,87	3,74	3,65	3,04

Tableau 33 / : Evolution de la flore aérobie psychrophile de la sardine en fonction de la température et la durée de conservation (Resultats exprimés en Log de nombre des germes).

Flore aérobie psychro- phile	Pageau frais	Pageau conservé à + 4° C				Pageau conservé à - 10° C				Pageau conservé à - 18° C			
		15 Js (x)	30 Js	45 Js	60 Js	15 Js	30 Js	45 Js	60 Js	15 Js	30 Js	45 Js	60 Js
Surface Log N	2,54	4,74	4,92	4,97	5,41	3,54	3,14	2,47	1,5	3,65	4,47	3,63	3,11
Muscle Log N	2,14	4,54	4,87	4,97	5,17	3,97	3,92	3,60	2,54	3,60	3,97	3,54	3,30

Tableau 34 / : Evolution de la flore psychrophile du pageau en fonction de la température et la durée de conservation (Resultats exprimés en Log de nombre des germes).

(x):Durée de conservation en jours.

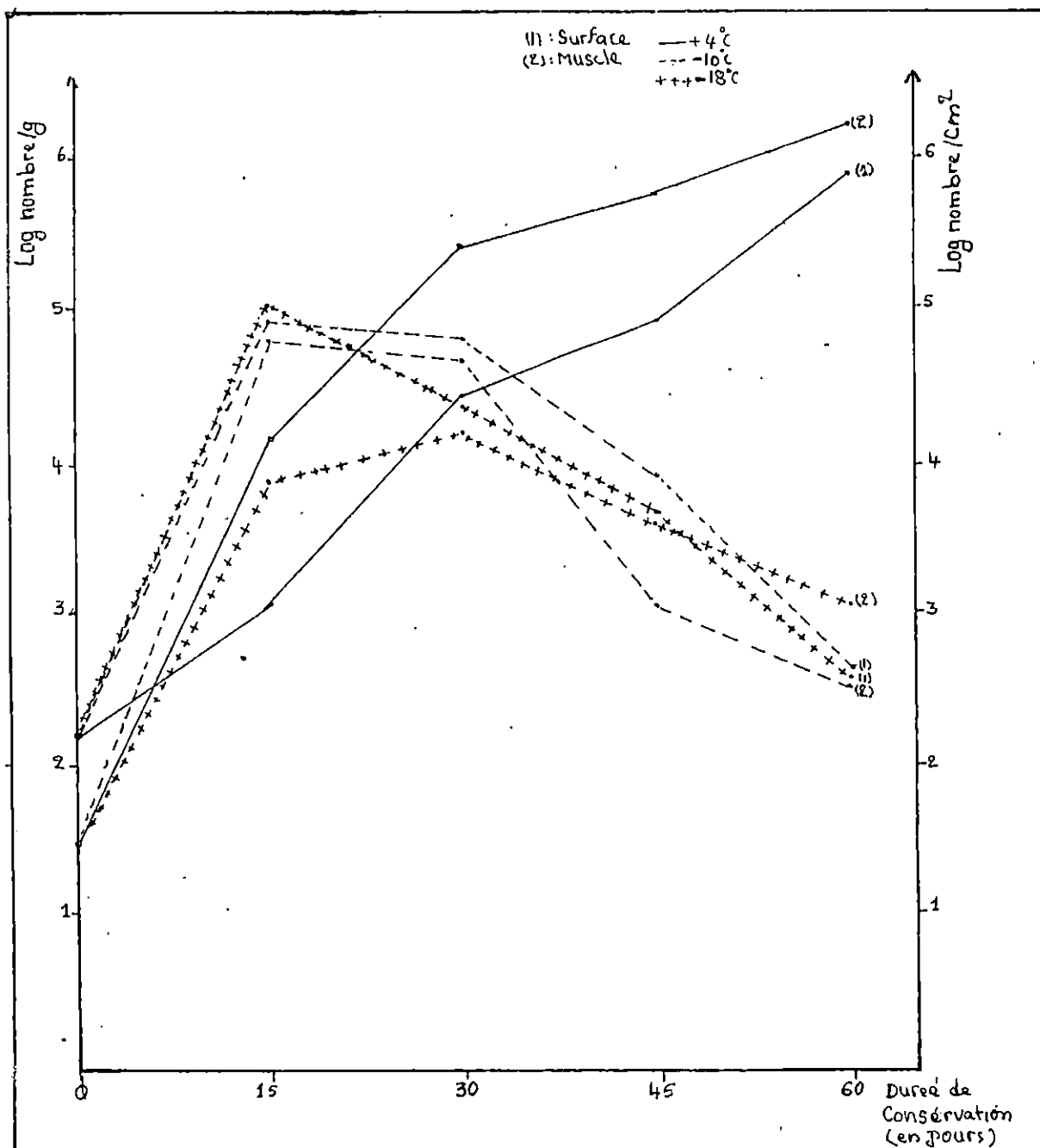


Figure 13: Evolution des germes psychrophile de la Sardine en fonction de la température et la durée de Conservation.

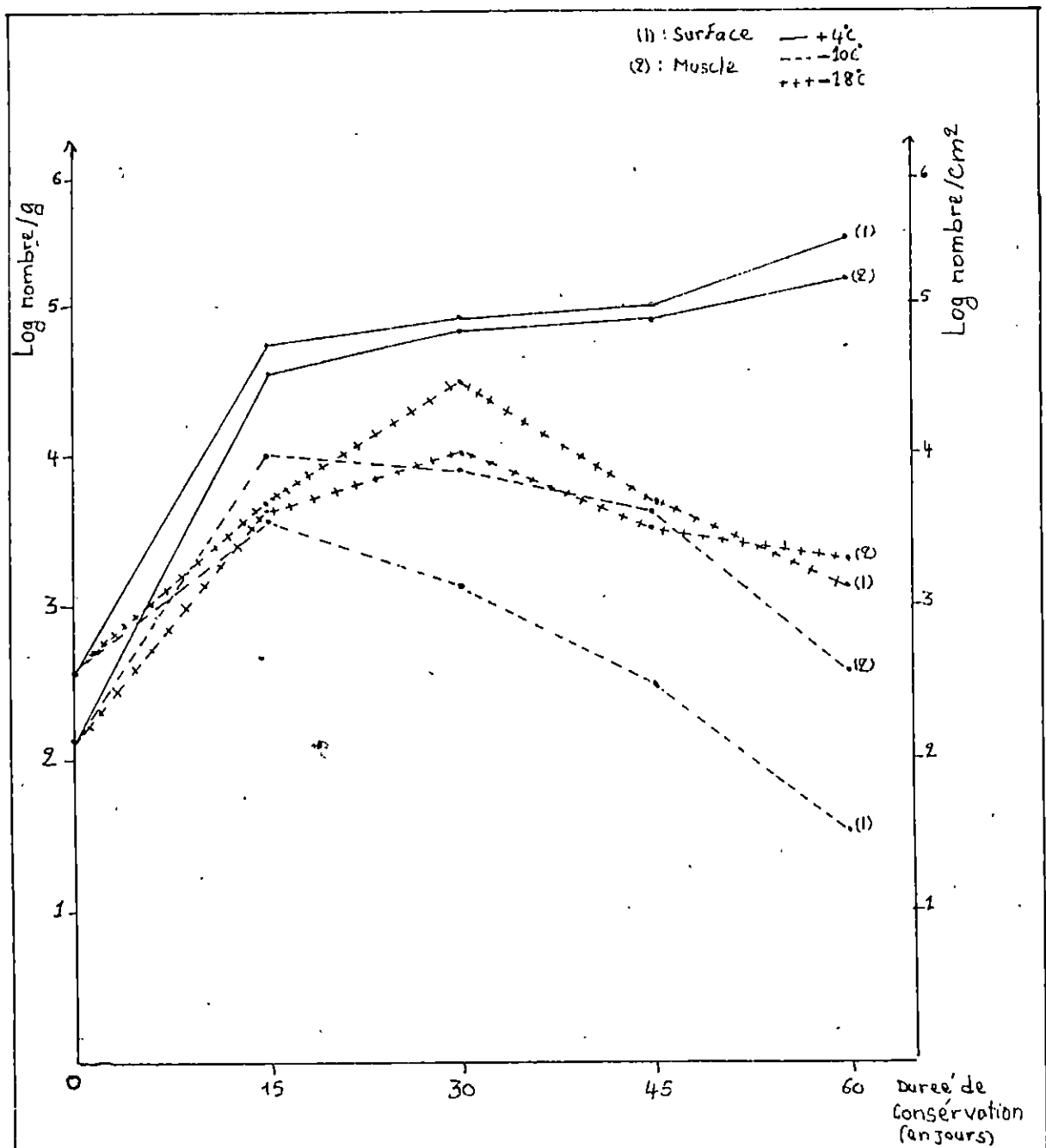


Figure 14: Evolution des germes psychrophiles du Pageau en fonction de la température et la durée de Conservation

demeure importante seuls les basses températures (congélation) arrivent à bloquer le développement des bactéries.

Nous remarquons une prolifération bactérienne accompagnée d'une forte diminution des qualités organoléptique et protidique chez les poissons (sardine et pageau) conservés, surtout au cours de la réfrigération à + 4° c (Figures 15, 16). Avec une légère diminution chez les poissons (sardine et pageau) congelés à -10 et -18° c

La prolifération bactérienne et la dégradation musculaire qui l'accompagne se traduisent surtout par la formation d'odeurs particulières et certains corps qui verront leur taux évoluer parallèlement à la population bactérienne , tels que la TMA et NH₄ qui constituent l'ensemble des corps dosés sous le nom d'Azote basique volatil total (ABVT) . (J. BILLON, 1978)

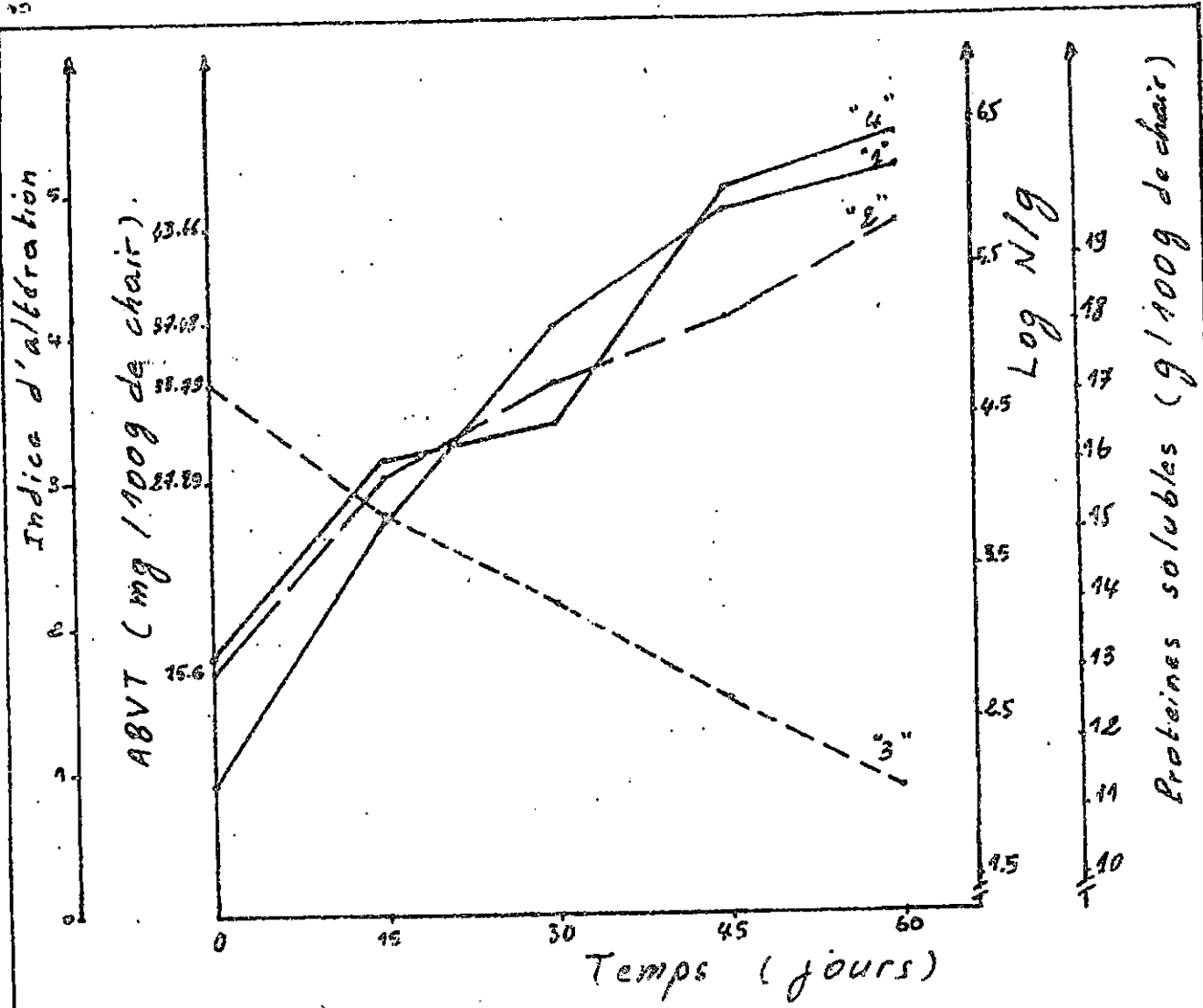


Figure 15 / Evolution des qualités organoléptique, biochimique et microbiologique de la sardine conservée à +4°C en fonction du temps.

- * "1" : indice d'altération.
- * "2" : ABVT
- * "3" : Proteines solubles
- * "4" : la flore aérobie. mésophile

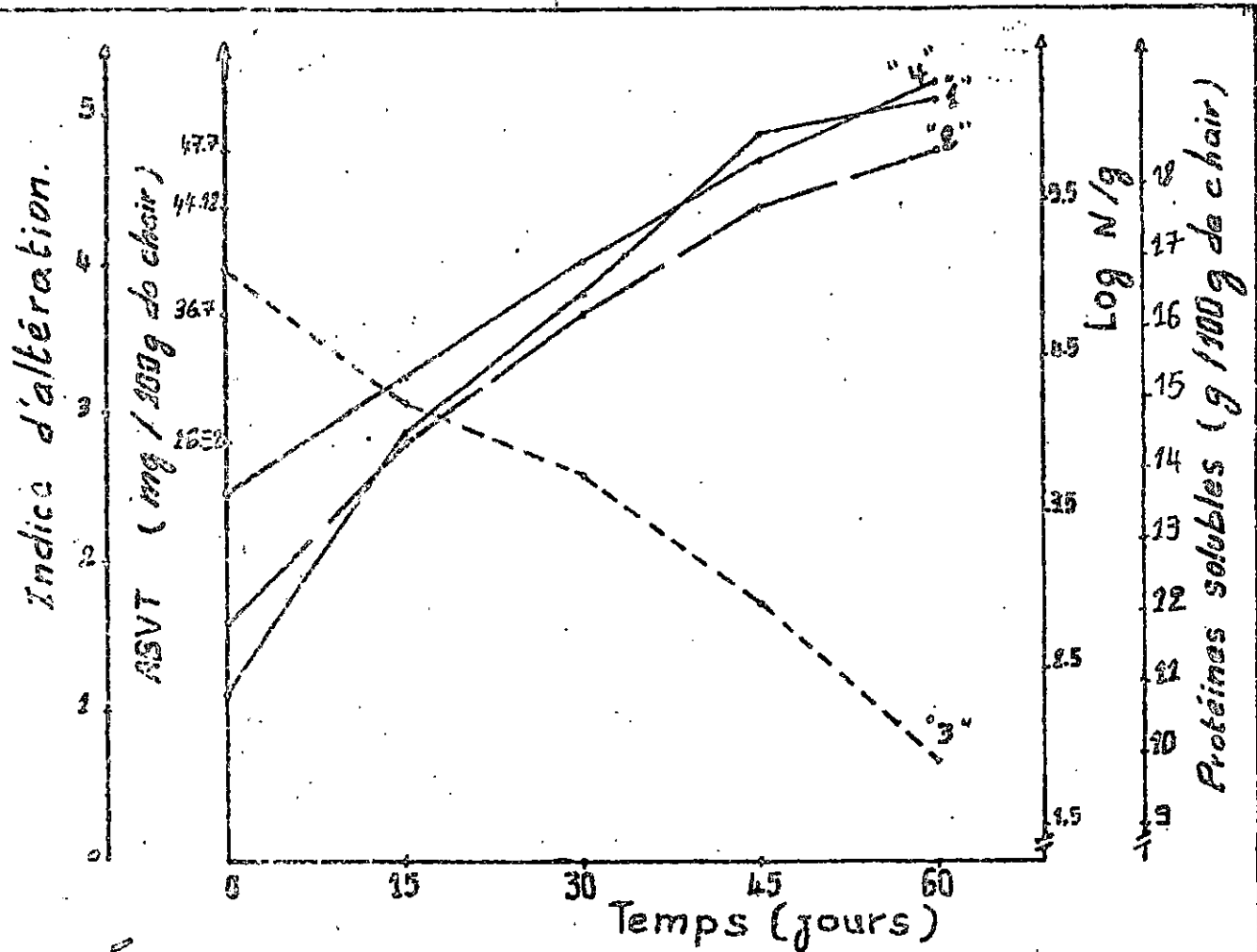
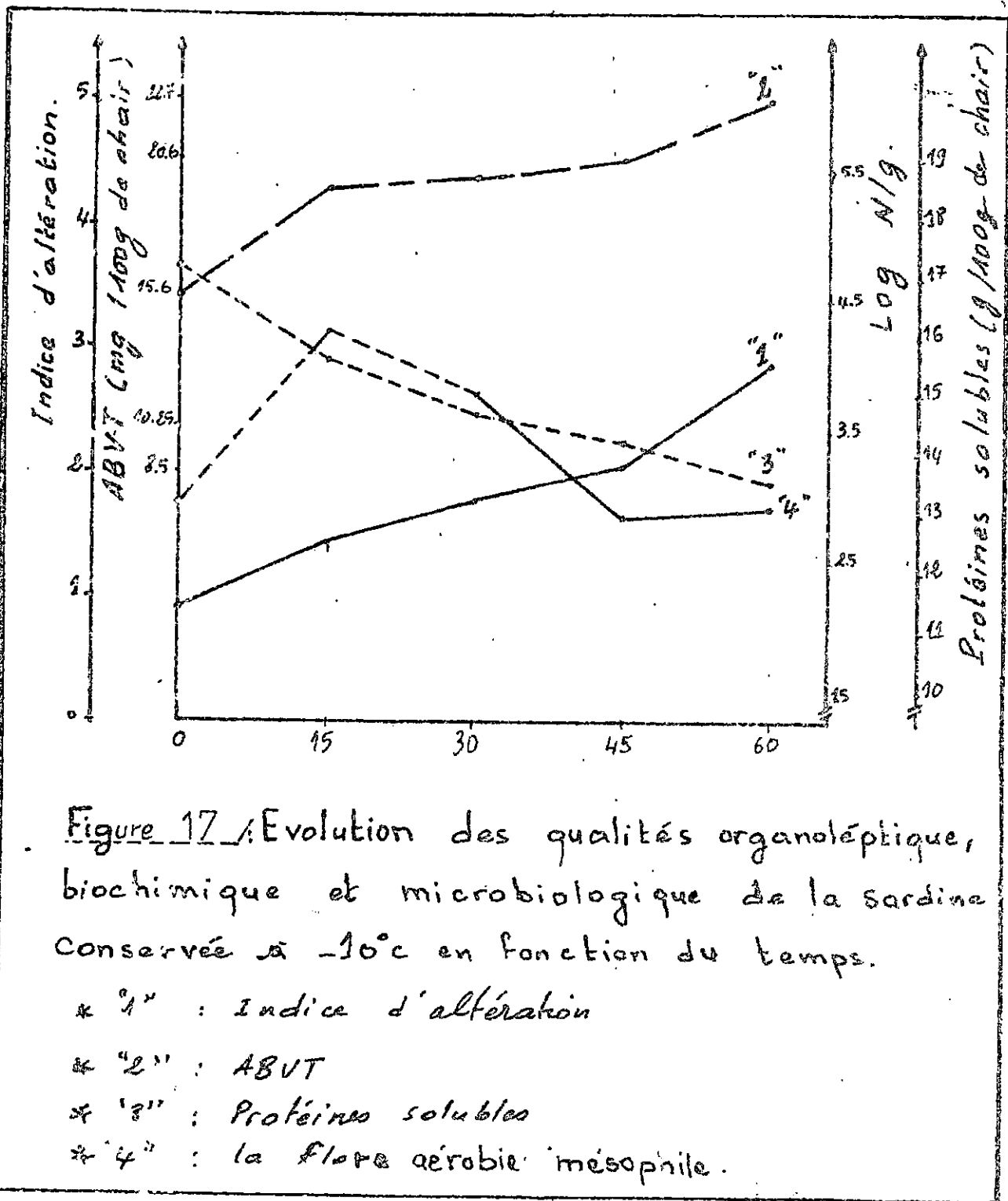


Figure 16 : Evolution des qualités organoléptique, biochimique et microbiologique du pageau conservé à +4°C en fonction du temps.

- * "1" : indice d'altération.
- * "2" : ABVT
- * "3" : Protéines solubles
- * "4" : la flore aérobie mésophile



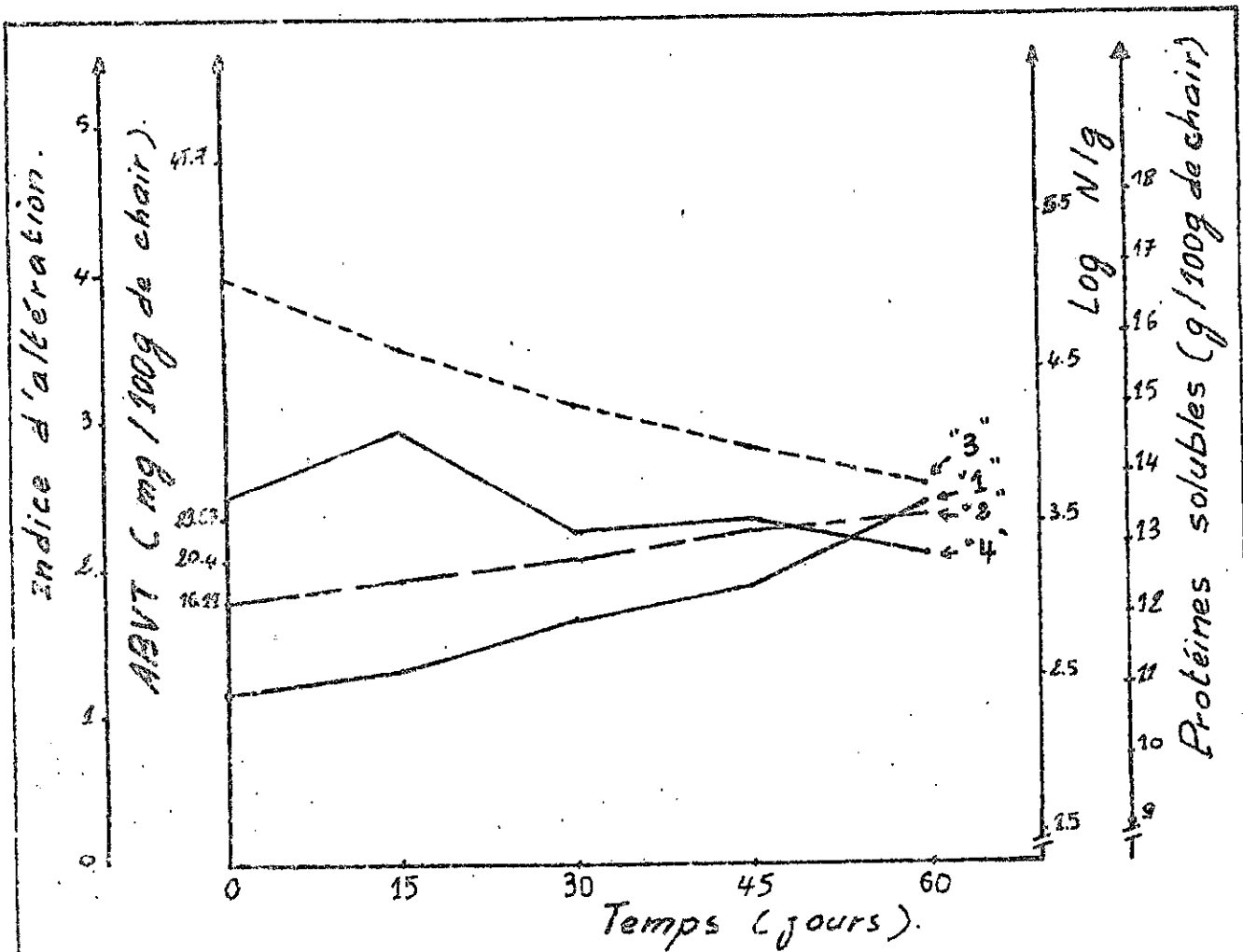


Figure 18 1: Evolution des qualités organoléptique, biochimique et microbiologique du pâté conservé à -10°C en fonction du temps.

- "1" : Indice d'altération
- "2" : ABVT
- "3" : Protéines solubles
- "4" : la flore aérobie mésophile

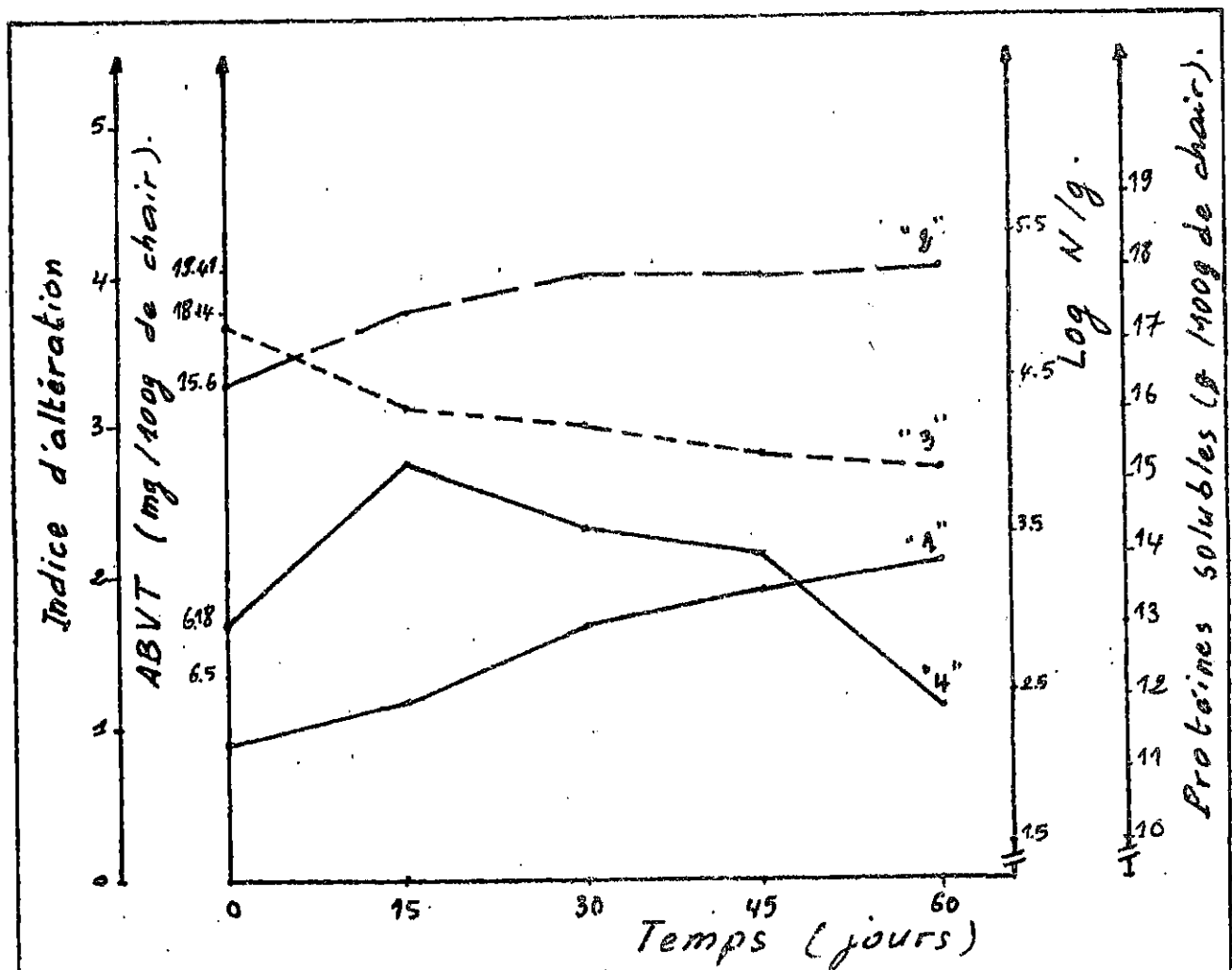


Figure 19. Evolution des qualités organoléptique, biochimique et microbiologique de la sardine conservée à -18°C en fonction du temps.

- * "1" : Indice d'altération
- * "2" : ABVT
- * "3" : Protéines solubles
- * "4" : la flore aérobie mésophile.

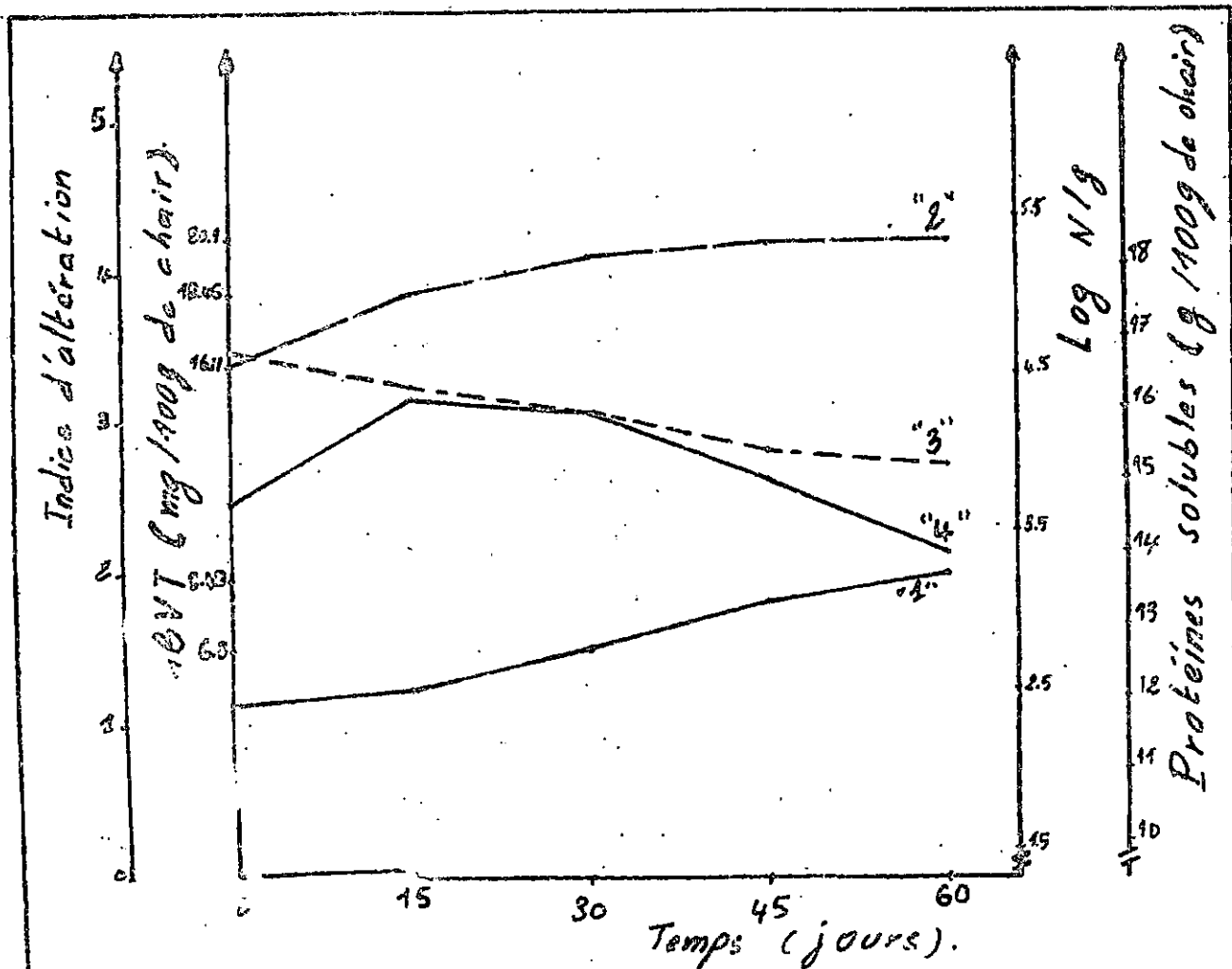


Figure 20: Evolution des qualités organoléptique, biochimique et microbiologique du pageau conservé à -18°C en fonction du temps.

- * "1" : indice d'altération
- * "2" : ABVT
- * "3" : Protéines solubles
- * "4" : la flore aérobie mésophile

C O N C L U S I O N

CONCLUSION

Les essais de conservation, de deux espèces de poissons (sardine et pageau) entiers (ni lavés, ni éviscérés) et protégés de l'air par des sachets en nylon ; nous ont permis de constater que :

Durant la conservation à une température de + 4°C, la qualité organoléptique, et biochimique (protéines) est diminuée après 15 jours de conservation ; ce qui nous a permis de dire que la réfrigération à + 4°C ne permet de conserver les poissons que pour une courte durée.

Les poissons congelés à - 10°C présentent une bonne qualité organoléptique, biochimique, et microbiologique

Les poissons congelés à - 18°C sont comparable au poissons frais (tableau).

D'après les résultats obtenus; nous pouvons déduire que :

- La congélation à des basses températures (- 10°C, et - 18°C) conserve mieux la qualité organoléptique biochimiques, et microbiologique des poissons que la réfrigération à + 4°C.

- Si la congélation à - 10°C, nous a permis d'avoir des poissons de bonne qualité organoléptique, et biochimique pendant une durée de 45 à 60 jours, la congélation à -18°C peut durer plus. La qualité microbiologique fait l'exception d'après les résultats obtenus ; la congélation à 10°C est

..../....

est plus intéressante qu'à - 18°C, cela pourrait être dûe aux fluctuations de la température au cours du stockage.

Il est nécessaire d'intervenir rationnellement pour éviter toutes altérations des poissons avant et au cours du stockage au froid. Pour cela il faudrait :

- Réduire les niveaux de contamination des poissons par : éviscération, lavage en utilisant une eau propre.

- Diminuer le temps de conservation en glace des produits à congeler.

- Il serait souhaitable de procéder à la congélation sur les lieux de pêche.

La durée de notre étude a été très réduite et ne constitue qu'un aperçu de l'évolution de la qualité organoleptique, biochimique, et microbiologique des poissons en fonction de la température et la durée de stockage au froid. IL serait souhaitable d'effectuer une étude sur une période prolongée, car elle est d'un grand intérêt pour la santé du consommateur et peut bien s'intégrer dans le développement de la chaîne de froid.

BIBLIOGRAPHIE

=====

0

0

0

- 1/ - Anonyme, 1964. Application du froid aux pays tropicaux
ITF. Abidjan.
- 2/ - Anonyme, 1977. La congélation des produits de pêche
- 3/ - Anquez M., 1978. Le froid au service de la pêche. Rev.
Pêche maritime - 57 (1 209).
- 4/ - Association française de normalisation, 1986 - contrôle
microbiologique en agro-alimentaire - 3^{ème} édition-AFNOR,
PARIS.
- 5/ - Billon G., 1978. Role du froid dans la conservation des
produits de la pêche - Aspects microbiologique et intérêt
en hygiène alimentaire. Pêche maritime - 57(1 209) PP
693-695.
- 6/ - Borgstrom G., 1962. Fish as food vol I et II. Ed. Academic
Press, New-York.
- 7/ - Bougis P. et Coll., 1976. Océanographie biologique appliquée.
Ed. Masson, Paris.
- 8/ - Bourgeois C.M., Leveau J.Y., 1980. Technique d'analyse et de
contrôle dans les industries agro-alimentaire : Le contrôle
microbiologique. APRIA. Tech. et DOC, Paris.
- 9/ - Boury M., 1958. L'altération du poisson. Rev. Trav. Pêches
maritime 8 (3), 31, PP 282-333.
- 10/ - Brisou J.F., 1980. Les bactéries marines. Ed. Masson, Paris.
- 11/ - Campello F., 1970. Bactériologie des produits de la mer
congelés. Rev. Gen. froid. 61(11) PP 1 445-1 459.
- 12/ - Cheptel J.C., et Coll., 1976. introduction à la biochimie et
à la technologie des aliments. Ed. Tech. Doc., Paris.
- 13/ - Didi ould El Hadj M., 1986. Qualité hygiénique et caracté-
ristique du poisson congelé importé de la mauritanie. Mem-
Ing. Agro. INA, Alger 92P.
- 14/ - Dieuzeide R., Novella n., 1977. La technique de conservation
par le froid des poissons et les autres animaux marines
comestibles. Ed. Apria, Paris.
- 15/ - Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins
de la pêche, 1987. Méditerranée et mer noire, Rome.
- 16/ - Guiraud J., Galzy P., 1980. L'analyse microbiologique dans
les industries alimentaires. Edition de l'usine nouvelle,
Paris.
- 17/ - Hovart P., et Coll., 1964. Les causes d'altérations du
poisson et l'influence de la température. Rev. Agriculture
17(5-6) PP 347-648.
- 18/ - Jamet Y., Lagoin Y et Coll., 1974. Manuel des pêches
maritimes tropicales. Ed. S.C.E.T.I., Paris.
- 19/ - Lecop R., 1965. Manuel d'analyse alimentaires et d'exper-
tises usuelles. Ed. Doin, Paris.
- 20/ - Louisot P., 1983. Biochimie générale et médicale/structu-
rale métabolique, et semeiologique. Villeur banne/paris :
SIMEP. /

- 21/ - Monvoisin A.,1947. La conservation par le froid des denrées alimentaires périssables d'origine animale. Ed Dunod, Paris.
- 22/ - Mouffouk A.,1976. L'étude d'une unité de froid appliquée aux produits de Pêche. These.ing.Agro-INA,Alger.
- 23/ - Oteng K.,1984. introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. Ed.Techet Doc Lavoisier, Paris.
- 24/ - Plank R.,1965. L'utilisation du froid dans les industries alimentaires. Ed. Dunod,Paris.
- 25/ - Rapin P.,1985. Formulaire du froid. Ed.Dunod,Paris 8ème édition.
- 26/ - Roger J.J.,1980. La course aux proteines. Economiste du tiers monde, 50, PP 28
- 27/ - Rosset R.,Méziane Y., 1974. influence de la congelation sur les aliments protéiques. C.D.I.U.P.A., 4,PP 1-139 Massy.
- 28/ - Sainclivier M. ,1983. Les industries alimentaires Halieutiques : Le poisson matière première. Bull. Scien. Tech. de l'école nationale de Rennes
- 29/ - Senez J.C.,1968. Microbiologie générale. Ed. Dunod,Paris
- 30/ - Saudan F., et Coll., 1965. conservation par le froid des poissons, crustacées et mollusques. Ed beillère et fils, Paris
- 31/ - Saudan F.,1977. Qualité microbiologique des produits de la pêche est t-elle fondée ? cah.nutr. et diet. 12(3),PP 199-203.

A N N E X E
=====

Annexe 1

Barème français de cotation

Caractères observés sur le poisson		N° des caractères	Appréciation organoleptique des caractères et COTATION							
			0	1	2	3	4	5	6	
EXAMEN A L'ETAT CRU	PEAU	Mucus	I	transparent coté 1		laiteux	opaque	grumeleux	jaunâtre épais coté 5	
		Pigmentation	II	irisée	couleurs chatoyantes	couleurs vives	couleurs ternies	terne	décoloré	grisâtre
	OEIL	Teinte	III	pupille noire brillante coté 1		pupille plus terne	cornée opalescente	pupille grise	cornée laiteuse blanchâtre coté 5	
		Affaissement	IV	bombé coté 1		un peu affaîsé	plat	concave au centre	très concave coté 5	
	BRANCHIES	Teinte	V	colorée brillante coté 1		moins colorée mate	se décolore	jaunâtre	grisâtre coté 5	
		Odeur	VI	spécifique	neutre	douceâtre	faiblement rance	légèrement putride	putride (sulfurée ou ammoniacale)	fétide
	RIGIDITE	Chair	VII	ferme coté 1		élastique	souple	molle	flasque coté 5	
		Paroi abdominale	VIII	intacte coté 1		détendue	molle	fragile	perforée coté 5	
	PERITOINE		IX	adhérent coté 1		non adhérent	déchiré	détérioré	lysé coté 5	
	COLONNE VERTEBRALE	Couleur de la chair avoisinante	X	même teinte que le reste de la chair coté 1			rose	rouge	brune coté 5	
Adhérence à la chair		XI	la colonne se brise au lieu de se détacher coté 1		nettement adhérente	non adhérente coté 4		colonne se détachant facilement coté 5		
EXAMEN APRES CUISSON	ODEUR	XII	aigue marine ou spécifique	neutre	faible ou désagréable	aigre (acide lactique)	surie (plus ou moins sulfureuse)	ammoniacale	putride	
	SAVEUR	XIII	spécifique	spécifique renforcée	spécifique atténuée	papier mâché	douceâtre un peu amère	amère, sulfurée ou ammoniacale	nauséuse	

(M. SAINCLIVIER, 1983 9)

Annexe 2
DOSAGE DE L'AZOTE TOTAL.

1- LA MINERALISATION.

- Introduire dans un matras de KJELDAHL 1 gramme de chair de poisson
- Ajouter quelques grammes de catalyseur et 25 ml d'Acide sulfurique pur (H₂SO₄).
- Placer les matras sur une rampe d'attaque reliée à un dispositif d'aspiration des vapeurs toxiques.
- Chauffer d'abord doucement, puis augmenter progressivement le chauffage jusqu'à ce que le contenu des matras soit porté à l'ébullition (éviter toute réaction trop brutale). Les vapeurs blanches doivent rester dans le cône du matras, sinon diminuer le chauffage.
- Lorsque le mélange se décolore et prend une coloration verte (une teinte grisâtre) la minéralisation est effectuée

PREPARATION DU BLANC.

Dans un matras; on met 25 ml d'Acide sulfurique et quelques grammes de catalyseur et on le traitera comme précédemment.

LA DISTILLATION.

- Prendre le résidu de la minéralisation et le compléter avec de l'eau distillée à 100 ml.
- Laisser refroidir.
- Après lavage de l'appareil de distillation (BUCHI); prelever 20 ml du solution à doser et l'introduire dans l'appareil.
- Ajouter environ 40 ml de NaOH (400g / litre)
- Rincer les conduites de l'appareil avec quelques ml d'eau distillée
- Placer un Becher contenant 20 ml d'Acide borique à 2 % et quelques gouttes d'indicateur mixte (rouge de methyl+ bleu de méthylène)?
- Faire passer un courant de vapeur rapide.
- A l'arrivée de la première goutte d'azote au Becher; compter environ

5 minutes (pour que toute la quantité d'Azote soit distiller).

- Titrer le distillat avec de l'acide sulfurique (0,1) jusqu'au virage au rose et noter le volume V ml de l'acide sulfurique dépensé pour le titrage.

L'Azote sera calculé à l'aide de la formule suivante :

$$N(g) = \frac{((/ \text{ ml} = V \text{ ml}) \cdot 0,14 \cdot 100}{P} \times 100$$

(/ ml : Nombre de ml d' H₂SO₄ dépensé pour le titrage de l'échantillon.

V ml : Nombre de ml d'H₂SO₄ dépensé pour le titrage du blanc.

P : La prise d'essai en grammes.

0,14 : La quantité d'Azote exprimée en grammes, neutralisée par 1 ml d' H₂SO₄: (0,1).

La quantité des protéines sera calculée par: N(g) X 6,25

ANNEXE 3 /: DOSAGE DE L'AZOTE BASIQUE VOLATIL TOTAL (ABVT) :

- Peser 5 grammes (+0,02) et faire homogénéiser .
- Ajouter 150 ml d'eau distillée , 20 à 30 ml d' MGO (5 %),
1 ou 2 gouttes d'antimousse et mettre le ballon pour distillation.
- La récupération s'effectue dans un Erlenmeyer où il y a 2 ml d' acide sulfurique H₂SO₄ (0,1N), 25 ml d'eau distillée, 1 ou 2 gouttes d'indicateur mixte.
- Après récupération, titrer le distillat avec une solution de NaOH (0,1N) .
- La quantité d'Azote basique volatil total sera calculée à l'aide de la formule suivante :

$$ABVT \text{ (mg \%)} = \frac{(A - B) \cdot K \cdot 1,4}{m} \times 100$$

A : Quantité de NaOH dépensée pour le titrage à vide.

B : Quantité de NaOH dépensée pour le titrage du distillat.

K : Correction sur le titre de (0,05 N) NaOH.

1,4 : Quantité d'Azote correspondante à 1 ml de solution de NaOH (0,05 N).

m : Poids du produit.

ANNEXE 4 /:

DOSAGE DU TRIMETHYLAMINE (TMA).

Technique.

Après le dosage de l'azote basique volatil total. On enchaîne avec la détermination du TMA.

-Prendre 20 ml de formol à 37 % ; faire neutraliser par une solution du NaOH (0,05 N).

La teneur du TMA dans ABVT est calculée par la formule suivante:

$$TMA \text{ (mg \%)} = \frac{(A - B - C) \cdot K \cdot 0,14}{m} \times 100$$

C : Quantité de NaOH (0,05 N) dépensée pour la titration du TMA.

ANNEXE 5 / PARTIE DE PREPARATION DES SOLUTIONS /:

* Acide Borique 2 % :

20g d'Acide borique dans un litre d'eau distillée (On fait dissoudre à chaud). L'ajustement du PH à 5,5 se fait avec de l'NaOH à 0,1 N de façon à être dans la zone de virage à une teinte gris-sole.

* Indicateur mixte : On fait dissoudre 0,2g de rouge de méthyl dans 200 ml et 0,1 g de bleu de méthylène dans 100 ml d'Alcool.

ANNEXE 6 /:

STERILISATION DE LA VERRERIE ET DU MATERIEL / :

Avant toute manipulation, toutes les conditions d'aseptie doivent être réunies.

La stérilisation des instruments est primordiale. Pour cela, les pipettes propres avec leurs coton du col sont placées dans des boîtes de stérilisation afin d'être stérilisées à vapeur sèche (four poulincel). Pendant 3 heures à 160°C.

Quant aux pinces et les scalpels, ceux-ci doivent être trempés dans de l'alcool puis passés à la flamme pour éliminer toutes traces de contamination.

ANNEXE 7 /:

IDENTIFICATION DES CARACTERES BIOCHIMIQUES / :

A D H : ARGININE

O D C : ORNITHINE

I D C : LYSINE

IND : PRODUCTION D'INDOLE

ONPG : ORTHONITROPHENYL - BETA - D - GALACTOSIDE

T D A : TRYPTOPHANE DESAMINASE

S F M : BOUILLON AU SELENITE DE SODIUM AZIDE

EPA : EAU PEPTONNEE ALCALINE

K I A : MILIEU GLUCOSE, LACTOSE, H₂S (HADJANA KLIGER)

T S I : MILIEU GLUCOSE, SACCHAROSE, LACTOSE, H₂S
(TRIPLE SUGGAR IRON).

IDENTIFICATION DES CARACTERES BIOCHIMIQUES / :

GÉLOSE A HECKTOEN / :

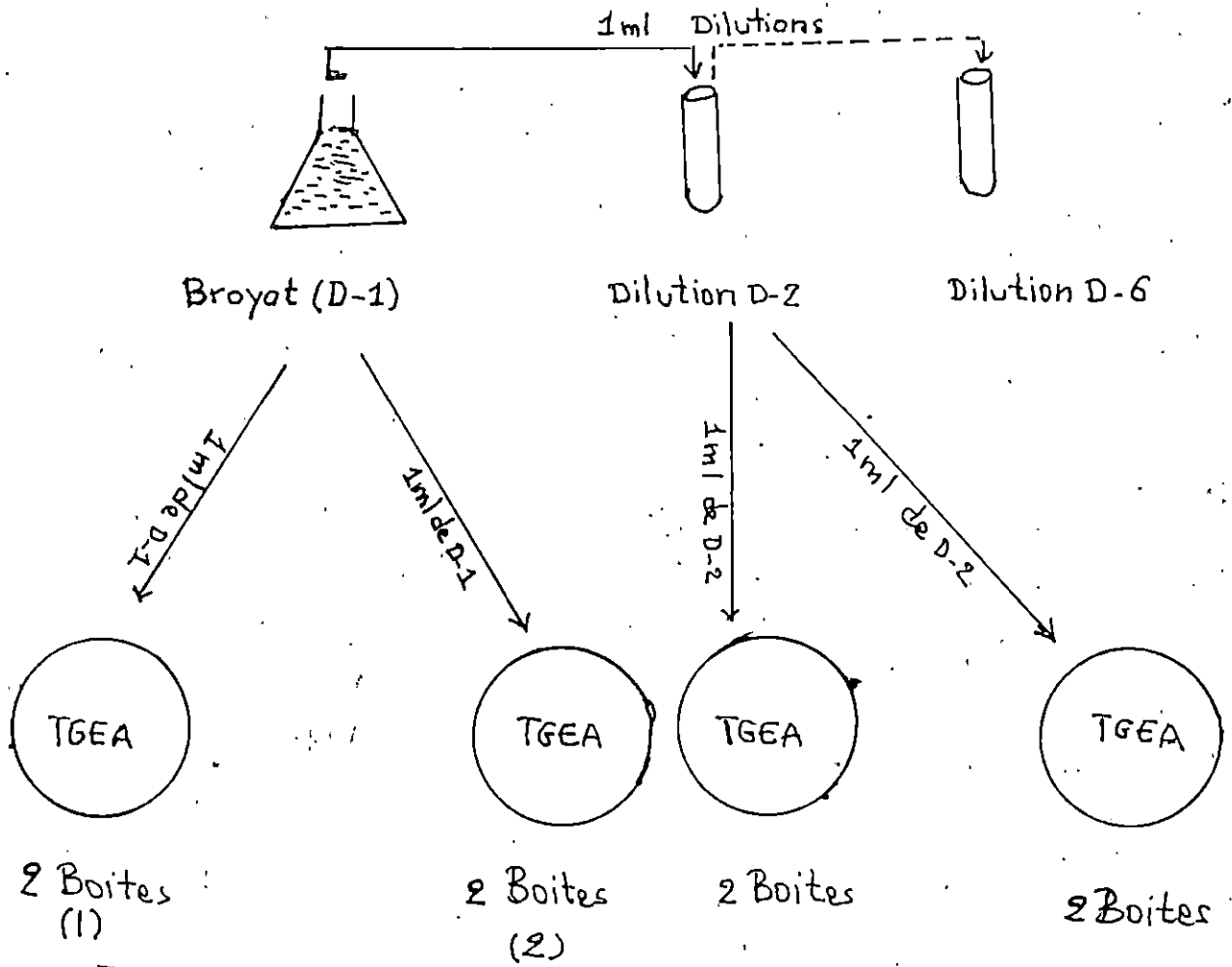
C'est un milieu de choix pour l'isolement des entérobactéries pathogènes.

La grande quantité de peptone équilibre l'effet inhibiteur des sels biliaires.

La dégradation du lactose, saccharose, et de la salicine permet de différencier plusieurs bactéries. Une différenciation supplémentaire repose sur la production d'H₂S grâce à la présence de Thiosulfate et de citrate de fer.

ANNEXE 9

Technique de numération des germes totaux



Incubation:

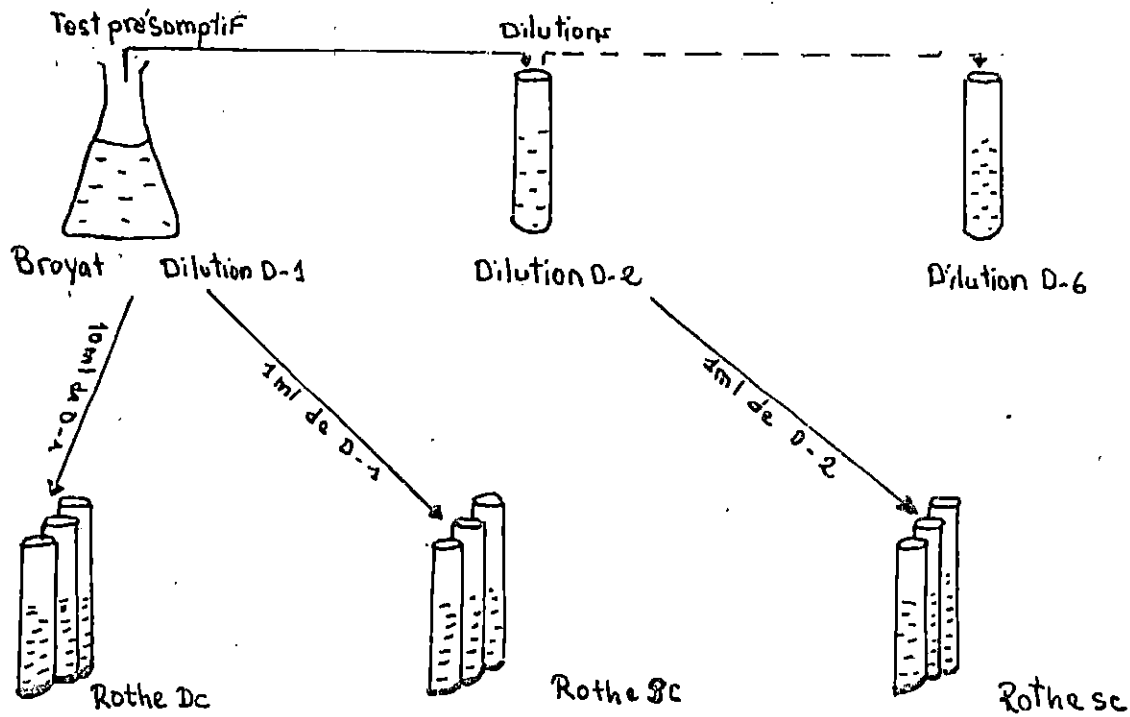
- (1) Incubation à 30°C pendant 72 heures.
- (2) Incubation à +4°C pendant 10 jours.

Lecture:

Dénombrement des colonies sur les boites contenant 30 colonies au moins et 300 au plus.

ANNEXE 10

Numération des streptocoques fécaux



Lecture :

Après incubation à 37°C pendant 24 H.

- présence d'une culture dans toute la masse liquide.

Test confirmatif : Prelever quelques gouttes de chaque tube positif et ensemençer le milieu EVA

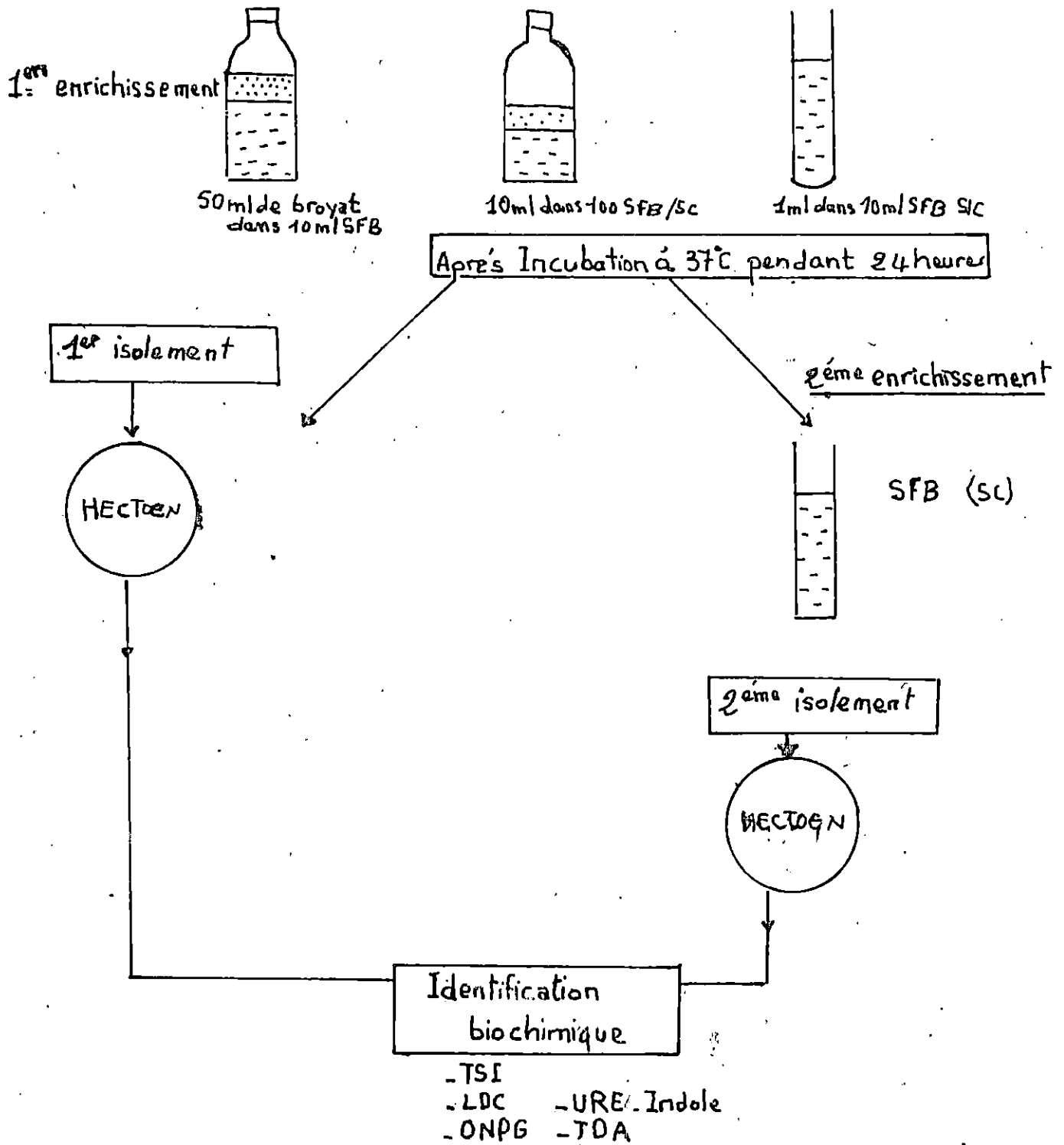


"EVA"

La température d'incubation est de 37°C pendant une durée de 24 H.

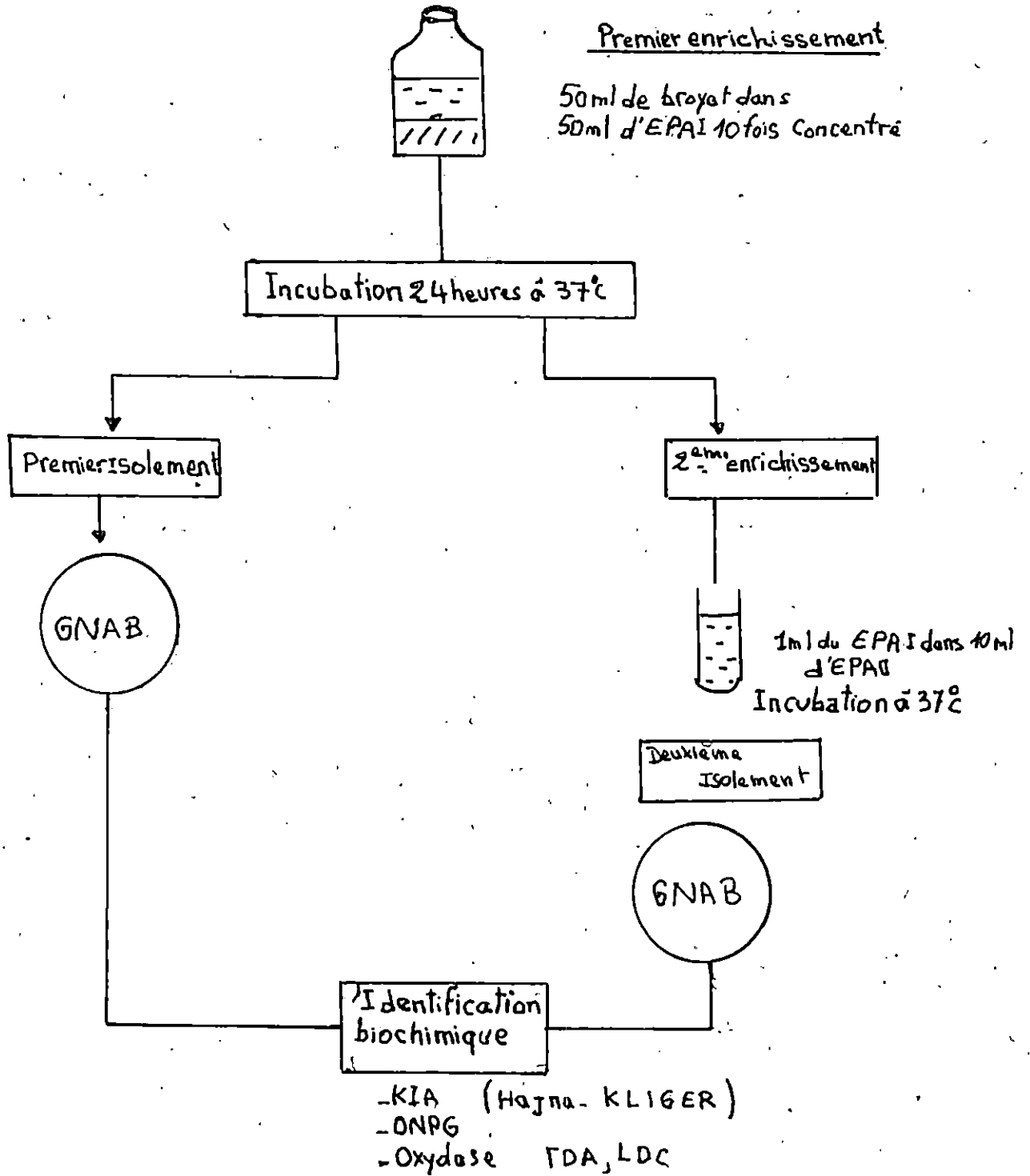
Apparition d'une pastille violette au fond du tube.

Technique de recherche des SALMONELLES

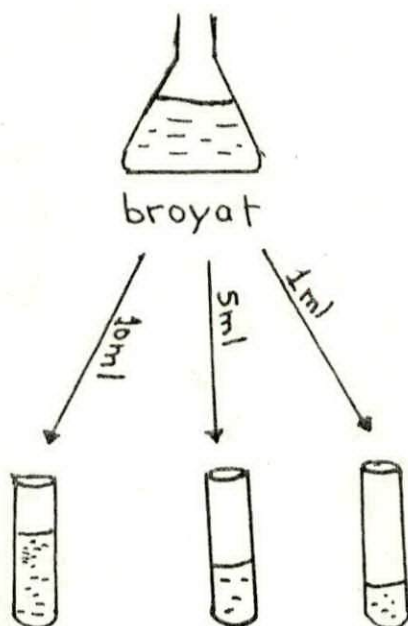


ANNEXE 12

Technique de recherche des vibrions cholériques.



Technique de recherche des clostridium Sulfito-réducteurs



15 minutes à 80°C
Puis verser dans chaque tube
le milieu viande de foie,
Alun de fer et Sulfate de
Sodium

Après refroidissement, l'incubation
à 37°C pendant 72 heures.

LECTURE: Après 24 H, 48 H, 72 H, on dénombre les colonies
de couleur noire

ANNEXE 14 / :

TABLE POUR LA DÉTERMINATION DE L'INDICE NPP
À PARTIR DU NOMBRE CARACTÉRISTIQUE

Nombre caractéristique			Indice NPP	Nombre caractéristique			Indice NPP
1 ^{ere}	2 ^{eme}	3 ^{eme}		1 ^{ere}	2 ^{eme}	3 ^{eme}	
0	0	0	—	2	0	0	0.9
0	0	1	0.3	2	0	1	1.4
0	0	2	0.6	2	0	2	2.0
0	0	3	0.9	2	0	3	2.6
0	1	0	0.3	2	1	0	1.5
0	1	1	0.6	2	1	1	2.0
0	1	2	0.9	2	1	2	2.7
0	1	3	1.2	2	1	3	3.4
0	2	0	0.6	2	2	0	2.1
0	2	1	0.9	2	2	1	2.6
0	2	2	1.2	2	2	2	3.5
0	2	3	1.6	2	2	3	4.4
0	3	0	0.9	2	3	0	2.9
0	3	1	1.3	2	3	1	3.6
0	3	2	1.6	2	3	2	4.4
0	3	3	1.9	2	3	3	5.3
1	0	0	0.4	3	0	0	2.3
1	0	1	0.7	3	0	1	3.9
1	0	2	1.1	3	0	2	6.4
1	0	3	1.5	3	0	3	9.5
1	1	0	0.7	3	1	0	4.3
1	1	1	1.1	3	1	1	7.5
1	1	2	1.5	3	1	2	12
1	1	3	1.9	3	1	3	16
1	2	0	1.1	3	2	0	9,3
1	2	1	1.5	3	2	1	15
1	2	2	2.0	3	2	2	21
1	2	3	2.4	3	2	3	29
1	3	0	1.6	3	3	0	24
1	3	1	2.0	3	3	1	46
1	3	2	2.4	3	3	2	110
1	3	3	2.9	3	3	3	> 110