

## APPROCHE MICROBIOLOGIQUE DE L'ANCHOITAGE

**François CAMPELLO**

IFREMER - Centre de Nantes,  
B.P. 1049, 44037 Nantes cedex, France.

### *Abstract*

MICROBIOLOGICAL APPROACH OF THE MATURATION OF MEDITERRANEAN ANCHOVIES.

The maturation of salted anchovies leads to a product of particular organoleptical properties. The manufacturers have to resolve many problems. A thorough investigation of the phenomenons which occur is necessary to resolve them. The maturation is conducted at different temperatures. The present paper reports the microbiological variations of the present microfloras, from hyper-halophilic to the non-halophilic, which escort organoleptical and biochemical ones chiefly at 20° C. If the maturations's temperature is maintained high (28° C) there is a strong proteolysis. A 20° C the organoleptical characters appear within 2 months. The non proteic nitrogen has a linear evolution and its quantity depends upon the consumer's taste. The non-halophilic microflora is reducing but the halotolerant and hyper-halophilic ones are expanding all along the maturation process. This is visible if the incubation period is long enough.

### *Résumé*

La maturation des anchois salés conduit à un produit aux caractères organoleptiques particuliers. Les industriels ont à résoudre plusieurs problèmes. Pour les résoudre, il faut effectuer des recherches complètes sur les phénomènes qui se déroulent pendant l'anchoitage. Des essais sont effectués à différentes températures. Nous relatons les variations des microflores en présence qui accompagnent les changements organoleptiques et chimiques, principalement à 20° C. Si la température de maturation est élevée (28° C), nous assistons à une forte protéolyse. A 20° C, les caractères organoleptiques s'établissent en 2 mois. La quantité d'azote non protéique formée suit une évolution linéaire et dépend du goût du consommateur. Pendant l'anchoitage, la flore non halophile diminue tandis que les flores halotolérante et hyperhalophile augmentent. Ceci est mis en évidence par une incubation suffisamment longue.

### **Situation et objet.**

Depuis des temps immémoriaux, l'homme essaie de préserver les captures faites aux périodes d'abondance pour les moments de vie difficile. La conservation par congélation ou par appertisation, telle que nous la connaissons aujourd'hui, n'existait pas autrefois. Elle s'accompagne de profonds changements physiques, chimiques et organoleptiques. Les petits clupéidés (sardine, anchois) révèlent leur extrême fragilité s'ils ne sont pas consommés frais juste après leur pêche, mais peuvent être protégés de l'altération par salage. Sur le pourtour de la mer Méditerranée, rares sont les peuples qui aujourd'hui consomment de la sardine salée. Par contre, la mise au sel de l'anchois se perpétue et trouve un regain d'intérêt de nos jours où les populations éprouvent un besoin croissant pour une nourriture riche, toute prête et appétissante.

Le salage de l'anchois dure un temps déterminé et se pratique sous pression dans un local dont la luminosité est affaiblie et à température modérée. L'ensemble des conditions optimales est connu des professionnels de l'anchoitage qui l'utilise à bon escient pour aboutir à un anchois mûr ayant toutes les qualités organoleptiques si appréciées des connaisseurs.

La France a un déficit en anchois de plusieurs milliers de tonnes par an. En 1979 (dernières valeurs officielles), la balance commerciale présente un déficit global toutes présentations confondues — du produit frais au produit conservé — de plus de 4 500 tonnes, représentant une valeur supérieure à 37 millions de francs.

Deux problèmes sont à résoudre pour faire disparaître le déficit actuel :

- trouver la, ou les, raison pour laquelle les poissons pêchés le long de notre côte atlantique, en dehors du golfe de Gascogne, n'arrivent à maturation qu'après des temps de salage 3 à 4 fois plus longs que ceux pêchés en Méditerranée ;
- accélérer le temps nécessaire à leur maturation.

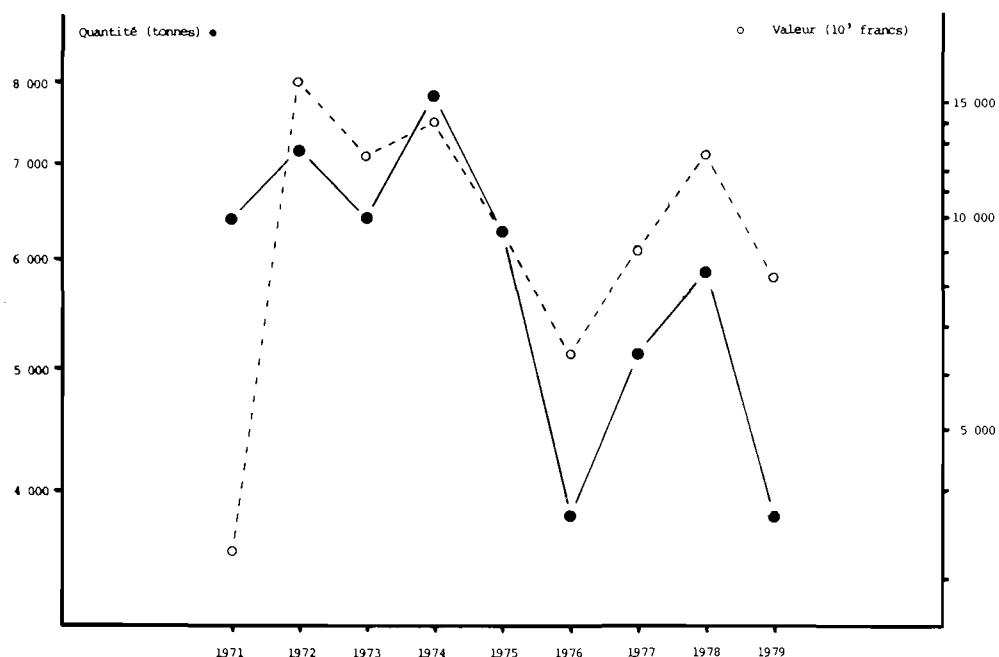


FIG. 1. — Evolution des quantités d'anchois pêchés en France et du montant de la pêche entre 1971 et 1979.

#### Facteurs économiques.

Les problèmes liés à la transformation des anchois se situent aussi à d'autres niveaux. La pêche est soumise à des variations très importantes d'une année sur l'autre, sans que les raisons en soient parfaitement connues (fig. 1). La valeur marchande du produit débarqué était estimée à un niveau très bas : 0,50 F/kg en 1960 et 0,51 F/kg en 1971. Après une remontée très forte en 1972 ( $\times 4,4$ ), elle ne s'est jamais maintenue à cette valeur, peut-être avait-elle été légèrement surestimée. Après une baisse sensible ( $\div 1,46$ ) pendant trois années consécutives, puis une remontée ( $\times 1,4$ ) de durée équivalente, elle s'est stabilisée pendant deux années consécutives à une valeur inférieure à celle de 1972 (fig. 2). Le tableau 1 montre le déficit du commerce extérieur pour les années 1975 à 1979. L'anchois, du fait de sa transformation, acquiert une forte valeur ajoutée. Elle n'est pas constante au cours du temps (tabl. 2). Le coefficient de valeur ajoutée, rapport entre le prix au kg du produit transformé et le prix du produit frais ou réfrigéré — ce dernier étant identique à l'intérieur ou hors de la Communauté économique européenne (C.E.E.) — n'est pas le même suivant que le produit fini est exporté vers les pays membres de la C.E.E. ou non.

#### Facteurs biologiques et microbiologiques.

Zoologiquement, les anchois pêchés le long de nos côtes atlantiques appartiennent à la même espèce que ceux pêchés en Méditerranée : *Engraulis encrasicolus* L. Les recherches consacrées à sa biologie par les chercheurs qui ont publié dans la *Revue des Travaux* de notre Institut est longue depuis ARNE (1931) jusqu'à RASS et CARRÉ (1980) ; FURNESTIN J. (1945), FURNESTIN J. et M.-L. (1959), ARRIGNON (1966), ARBAULT et LACROIX (1971 et 1977), ALDEBERT et TOURNIER (1971), QUIGNARD *et al.* et YANNOPOULOS *et al.* (1973), sans oublier les travaux de FAGE (1911), LEE et JUGE (1965). Il doit y avoir une différence de nature puisque, placés dans les mêmes conditions, le processus est plus lent avec les poissons pêchés

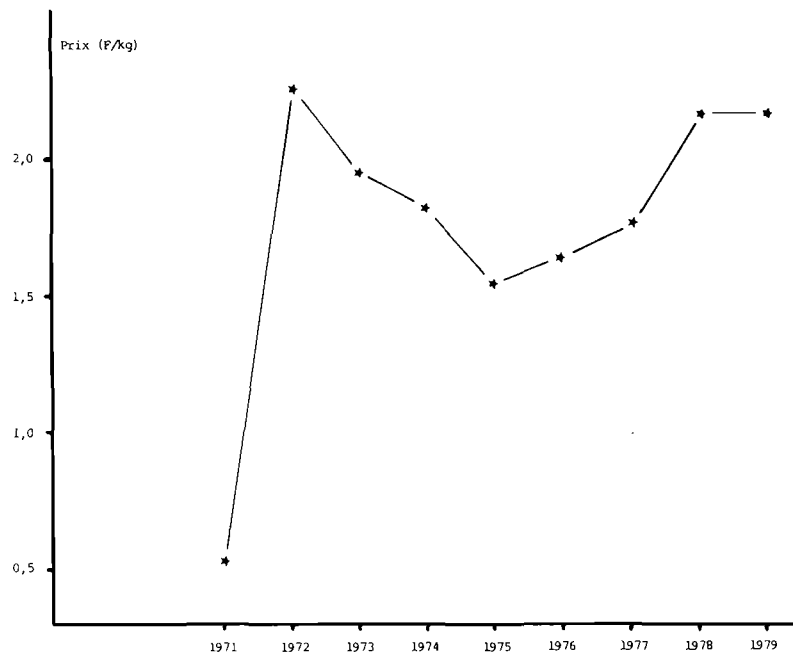


FIG. 2. — Evolution du prix de vente d'anchois frais (F/kg) entre 1971 et 1979.

Année		Frais ou réfrigérés	Congelés	Salés ou séchés	Conserves	Total
1975	Q	- 1 506,6	- 169,8	- 1 202,4	- 371,8	- 3 250,6
	V	- 2 034	- 237	- 3 588	- 2 407	- 8 266
1976	Q	- 3 214,7	- 372,9	- 3 037,1	- 528,8	- 7 153,6
	V	- 5 717	- 399	- 13 643	- 3 689	- 23 689
1977	Q	- 1 441,9	- 752	- 3 853,9	- 1 321,5	- 7 369,3
	V	- 2 708	- 1 067	- 18 246	- 13 458	- 35 479
1978	Q	- 807,5	- 139	- 1 608,7	- 1 844,4	- 4 399,6
	V	- 1 703	- 145	- 7 897	- 19 878	- 29 623
1979	Q	- 3 010,6	- 232	- 815,1	- 2 408	- 6 465,7
	V	- 5 745	- 256	- 4 863,9	- 29 113	- 39 977,9

TABL. 1. — Evolution du déficit de la balance commerciale entre 1975 et 1979 (Q : quantité en tonnes, V : valeur en francs  $\times$  1000).

au nord du golfe de Gascogne. Le fait que la population des anchois atlantiques, à la latitude de notre pays, soit composée de deux groupes distincts (GUÉRAULT et AVRILLA, 1978), peut expliquer, en partie au moins, le phénomène. Mais ces deux groupes sont mêlés sur les bancs de pêche, d'où l'impossibilité de les séparer et de savoir si le retard à la maturation est plus long dans un groupe que dans l'autre pour aboutir aux délais que nous connaissons. Les méthodes modernes de détermination d'espèces s'effectuent par électrophorèse de la fraction hydrosoluble des protéines. Un travail en cours a pour objet de détecter des différences électrophorétiques entre les populations méditerranéennes et atlantiques.

Les anchois de l'Atlantique-Nord ont fait l'objet de recherches chimiques et bactériologiques dès 1951 (MERCIER-MARQUES et LEPIERRE). Ces travaux sont repris en 1975 et 1978 par l'ISTPM (COSNARD *et al.*, 1983).

Année		Coefficient
1975		12,55
	C.E.E.	16,29
1976		11,50
	C.E.E.	11,37
1977		11,55
	C.E.E.	11,43
1978		10,85
	C.E.E.	10,58
1979		11,89
	C.E.E.	11,29

Tabl. 2. — Evolution du coefficient de la valeur ajoutée entre 1975 et 1979 : hors C.E.E. : moyenne 11,67 ; C.E.E. : moyenne 12,19.

Les anchois méditerranéens sont étudiés par nos collègues européens (BALDRATI *et al.*, 1975 et 1977 ; ESTABLIER et GUTTIEREZ, 1972 et 1978 ; GUTTIEREZ *et al.*, 1980). Il ne semble pas, à travers la littérature, que des études bactériologiques soient effectuées par eux. L'anchois de l'Atlantique-Sud (*E. anchoita*) est, lui aussi, l'objet de recherches (FILSINGER *et al.*, 1977 et 1981 ; MATOS *et al.*, 1976). Les études bactériologiques menées dans l'océan Atlantique montrent que 13 à 15 % des souches isolées sont halophiles strictes ; ce pourcentage n'est plus que de 10 % pour la microflore liée aux espèces planctoniques (BRISOU, 1980). Dans les eaux de la Méditerranée, il existe une flore libre halophile extrême comprise entre 0,4 et 7 unités formant des colonies (U.F.C.) par litre (RODRIGUEZ-VALERA *et al.*, 1979). Ces germes, incapables de se multiplier à la salinité marine normale, peuvent survivre et être transportés vers des lieux plus favorables : marais salants et saumures artificielles.

En ce qui concerne l'anchoitage, nous savons que les anchois de Méditerranée mûrissent à n'importe quel moment de l'année. En hiver, le processus est ralenti par la température, mais il reste relativement court, étant donné la petite taille du poisson à cette époque. En appliquant une bonne technologie (DIEUZEIDE et NOVELLA, 1942 ; MERCIER-MARQUES, 1953), il est possible de faire mûrir les animaux gras du printemps.

### Conditions de l'étude.

Les anchois dont nous disposons sont pêchés au lamparo au large des côtes des Pyrénées-Orientales au début du mois de juin 1981. Ils sont mis au sel dans des seaux métalliques de 30 kg par une entreprise de Port-Vendres selon la méthode sicilienne, qui ne s'applique qu'à du poisson d'excellente qualité. Le transport jusqu'à Nantes s'effectue en camion frigorifique. A leur arrivée, les seaux sont répartis dans des locaux régulés aux températures de 4, 12, 20 et 28° C. Sur le disque de bois qui recouvre la couche supérieure de sel, nous disposons une charge d'une vingtaine de kilogrammes isolée par une enveloppe en polyamide. La pression ainsi exercée est d'environ 30 g/cm<sup>2</sup> pendant toute la durée de l'anchoitage.

L'évolution est suivie chaque semaine par des examens organoleptiques ; toutes les deux semaines par des analyses chimiques et bactériologiques. Nous désirons en effet confirmer les résultats déjà acquis avec des anchois pêchés et mis au sel sur la côte basque. Les paramètres qui risquent d'influer sur l'évolution sont : la température, la pression et la contamination exogène. Les deux premiers sont connus. La contamination endogène doit être la même pour les poissons d'une même espèce, pêchés à la même latitude : chair stérile contaminée par les viscères. La contamination exogène provient des manipulateurs, du sel et de l'équipement. Au niveau du laboratoire, elle est limitée. Nous veillons à ce que la saumure baigne perpétuellement le disque de bois. Les prélèvements sont effectués dans les meilleures conditions d'asepsie possible à l'aide de gants stériles. Nous espérons ainsi ne pas contaminer le milieu de maturation qui, étant hypersalé, ne convient pas au développement des germes d'altération habituels.

#### Suivi de la flore bactérienne.

L'évolution de la flore bactérienne est suivie sur deux géloses selon GIBBONS (BRISOU, 1980). L'une, G 25, possède tous les éléments minéraux dans les proportions définies par l'auteur et une teneur en NaCl de 25 %. Elle est destinée aux microorganismes qui tolèrent ou exigent une concentration saline élevée pour croître. L'autre, G 3, a 3 % de NaCl et les autres éléments minéraux sont proportionnellement diminués. Elle sert à la croissance des germes qui tolèrent ou exigent une salinité modérée comprise entre 0,5 et 5 %. Ce choix se justifie par notre désir de retrouver toutes les flores présentes dans les seaux : les halophiles faibles, les halotolérants et les hyperhalophiles, avec un minimum de géloses d'isolement. L'halophilie des souches isolées est étudiée dans une gamme de géloses dont la composition est donnée dans le tableau 3. Le broyage des chairs s'effectue dans le diluant suivant la proportion de 1 à 5 (poids/volume) pendant une minute :

protéose-peptone n° 3	0,5 g	chlorure de potassium	2 g
extrait de levure	0,5 g	eau distillée	1 000 ml
chlorure de sodium	250 g	pH = 7	
citrate de sodium	3 g	stérilisation	15 mn à 120° C
sulfate de magnésium heptahydrate	20 g		

Les géloses ensemencées en double exemplaire en surface sont incubées à 20° C, enfermées hermétiquement dans des sachets en polyamide. Les lectures sont effectuées après une à huit semaines d'incubation. Les dénombrements sont conformes aux directives en vigueur (CAMPELLO, 1983).

Composition	G 0	G 3	G 10	G 15	G 20	G 25
Casamino acides	5	5	5	5	5	5
Protéose peptone	5	5	5	5	5	5
Extrait de levure	5	5	5	5	5	5
NaCl	0	30	100	150	200	250
Citrate de sodium	0	0,36	1,2	1,8	2,4	3,0
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0	2,4	8,0	12,0	16,0	20,0
KCl	0	0,24	0,8	1,2	1,6	2,0
Pastagar B	13	13	13	13	13	13
Eau distillée (ml)	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000

TABL 3. — Composition des géloses en grammes selon GIBBONS (pH = 7 : stérilisation 15 mn à 120° C).

#### Suivi des analyses chimiques et organoleptiques.

Les analyses chimiques comprennent le dosage de l'eau après dessiccation à l'étuve, à 105° C pendant 24 heures, des chlorures et de l'azote sous différentes formes. Plus que l'hydratation, l'activité de l'eau non liée à des molécules ioniques ou non ioniques est importante pour le devenir des micro-organismes présents. Pour éviter le pourrissement des chairs sous l'effet des bactéries putréfiantes, il faut que l'eau libre ( $a_w$ ) soit en quantité limitée par une pénétration importante du sel. Elle est mesurée par un appareil SINA équipé d'un capteur JAN 27. Nous mesurons le pH de la chair broyée et celui de la saumure non filtrée, mais exempte de cristaux de sel. La salinité est mesurée par titrage automatique des ions chlore au moyen d'un chlorimètre Corning. L'azote total est dosé par la méthode de KJELDAHL et l'azote non protéique après précipitation des protéines par l'acide trichloracétique. L'extraction des acides aminés libres et totaux se fait selon la méthode de BALDRATI (1975) et le dosage selon celle de FOLIN-CIICALTEU.

Les examens organoleptiques portent sur les aspects externes et internes, l'odeur, la saveur, la texture et la couleur des anchois débarrassés de leurs cristaux de sel sous un léger courant d'eau à l'aide du pouce et de l'index.

## Résultats.

#### Examens sensoriels.

Nous donnons ces résultats (tabl. 4) où apparaissent les caractères qui varient. Une cotation numérique sera évaluée ultérieurement quand des stades précis et renouvelés auront été mis en évidence, comme cela est le cas pour les *E. anchoita* (FILSINGER *et al.*, 1981).

Pour nous résumer, à 20° C nous ne voyons pas apparaître de phénomènes inacceptables concernant la lyse, l'odeur, la texture et la couleur. L'odeur est nette et la texture moelleuse à la 5<sup>e</sup> semaine, la saveur

	Peau	Gonades et intestin	Adhérence *	Odeur	Saveur	Texture	Couleur
1 <sup>re</sup> semaine (quelle que soit la température)	Intacte	Présents	Forte	De poisson cru			Chair grise, teinte rougeâtre le long de la colonne vertébrale à toutes les températures ; cet emplacement reste marqué jusqu'à la fin de la maturation
2 <sup>e</sup> semaine	Début de lyse dorsale à toutes les températures	—	Forte dans la partie du corps antérieur à l'anus ; moins forte à 20° C et même faible à 28° C	Très faiblement anchoitée à 28° C	N'est plus celle du poisson cru à 28° C	Sèche à 28° C	Légèrement beige ventralement à 28° C
3 <sup>e</sup> semaine	Lyse centrale à 20° C, ventrale et caudale à 28° C	—	A 20° C, faible jusqu'à l'anus mais forte au- delà ; à 28° C faible tout le long du corps	Très faiblement anchoitée à 20° C, plus nette à 28° C	Neutre à 20° C, faiblement anchoitée à 28° C	Ni sèche, ni moelleuse à 20 et 28° C	Légèrement beige ventralement à 20° C
4 <sup>e</sup> semaine	Presque complètement lysée à 28° C	—	Presque nulle à 28° C, plus forte quand la température est plus basse	Nette à 28° C, très faible aux autres températures	Peu anchoitée à 20° C ; plus accentuée à 28° C	Tendre à 20 et à 28° C	à 12° C : beige ventralement ; à 28° C : presque totalement beige
5 <sup>e</sup> semaine	Lyse ventrale à 12° C ; presque totale ou totale ailleurs	Début de lyse à 12° C ; liquéfaction en cours à 20° C, Complètement disparu à 28° C, ainsi que la paroi abdominale : l'anchois a un aspect en « col de cygne »	Faible à 12 et à 20° C	Très faible à 12° C ; anchoitée à 20° C ; forte à 28° C	Toujours crue à 12° C ; faiblement anchoitée à 20° C ; anchoitée à 28° C	Moelleuse à 20° C ; sèche à 28° C	La teinte beige s'étend à 20 et à 28° C. Elle devient foncée à 28° C
6 <sup>e</sup> semaine	"	En lyse quand ils n'ont pas disparu	"	Faible à 12° C ; anchoitée à 20° C ; nettement aromatique à 28° C	"	"	à 12° C : dos gris, beige sur le ventre à 20° C : début de rosissement du ventre à 28° C : beige marron
7 <sup>e</sup> semaine	"	"	"	De « cuit » à 28° C	Un peu plus anchoitée à 20° C	Tendre à 20° C ; farineuse à 28° C	"
Semaines suivantes	"	La lyse se poursuit, elle gagne les filets à 28° C	"	"	Sans changement, sauf à 28° C  où elle est piquante	—	à 12° C : ventre beige, dos gris à 20° C : rose dans toute la longueur du filet après 16 semaines à 28° C : beige marron

TABL. 4. - - Résultats des examens sensoriels effectués sur 4 lots d'anchois mis au sel aux températures de 4, 12, 20 et 28° C.

est correcte à la 6<sup>e</sup> semaine. La couleur franchement rose n'est visible que tardivement (16 semaines de maturation). Il n'y a pas de liquéfaction des filets à ce moment-là.

### Examens chimiques.

L'évolution chimique qui accompagne l'anchoitage n'est suivie qu'à une seule température : 20° C. Le premier dosage de la teneur en NaCl a lieu après 9 jours de mise au sel. Elle est constante dans le poisson : 16,4 % de la matière humide (M.H.) et dans la saumure : 29,0 % pendant la durée de l'étude. La teneur en eau de l'anchois frais (*E. encrasicolus*) est voisine de 75 % M.H. selon BALDRATI *et al.* (1975). Au neuvième jour de salage, le taux de matière sèche est de 50 % M.H. et reste constant. L'activité de l'eau du poisson frais est voisine de 1. Après 15 jours de séjour au sel, elle est de 0,75 et ne varie pratiquement plus par la suite. Ceci nous conduit à classer l'anchois salé parmi les aliments à humidité intermédiaire (A.H.I.) à l'abri des processus microbiologiques de putréfaction. Le pH du poisson (5,3) et de la saumure (5,2) sont semblables et invariables.

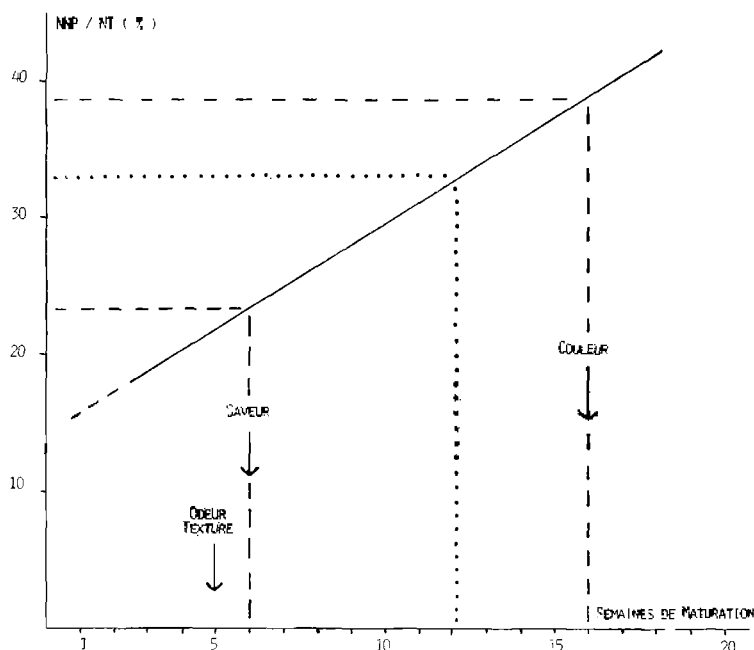


FIG. 3. — Evolution de la quantité d'azote non protéique (N.N.P.) par rapport à l'azote total (N.T.) en pourcentage pendant la maturation à 20° C.

La quantité d'azote total (N.T.) est constante : 12,1 g pour 100 g de matière sèche dessalée (M.S.D.). La teneur en azote non protéique (N.N.P.) évolue en fonction du temps suivant la relation :  $N.N.P. = 0,19 t + 1,75$ , dans laquelle N.N.P. est exprimé en pourcentage de la M.S.D. et t en semaines.

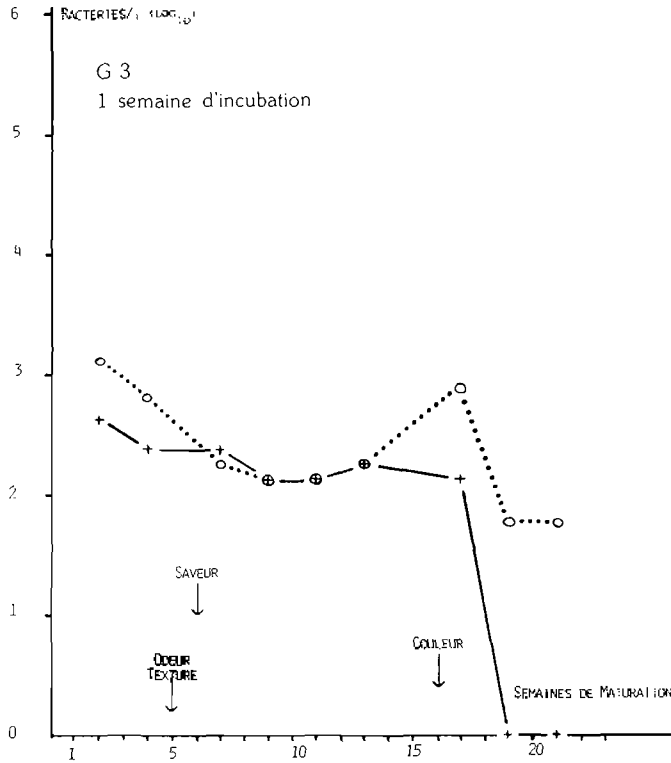
Le rapport de l'azote non protéique à l'azote total évolue de manière linéaire et atteint une valeur voisine de 40 % à la 17<sup>e</sup> semaine de maturation. La valeur de 33 % (MATTOS *et al.*, 1976) est atteinte en 12 semaines alors que tous les caractères organoleptiques de l'anchoitage sont apparus depuis quelques semaines, sauf la coloration rose caractéristique qui n'est visible qu'un mois plus tard (fig. 3).

### Examens bactériologiques.

La figure 4 schématise l'évolution constatée. Pendant les 8 à 10 premières semaines de maturation, quelles que soient la durée de l'incubation et la salinité de la gélose utilisée, les phénomènes de diminution et d'augmentation des flores sont les mêmes, qualitativement et quantitativement, avec des différences minimes entre les récipients.

Au début de la maturation, sur la gélose salée à 3 %, le nombre des germes présents et capables de former des colonies à une salinité voisine de celle de l'eau de mer est très faible : un millier environ par gramme. Ce nombre diminue presque d'une puissance de 10 en 8 à 10 semaines. Selon que la durée d'incubation offerte aux germes vivants, ou survivants, dans un environnement à forte concentration saline est de 1 ou de 8 semaines, l'évolution et les valeurs trouvées ne sont pas les mêmes.

- Si l'incubation dure une semaine (fig. 4), les bactéries placées dans un milieu hypersalé depuis plusieurs semaines tendent à ne plus former de colonies visibles. Celles qui ont conservé leur aptitude à se multiplier rapidement sur une gélose à faible salinité sont au nombre de 1 000. Leur nombre se stabilise. Il peut y avoir des différences entre les récipients. Nous assistons, ou bien au maintien d'une population peu nombreuse, ou bien à sa disparition.



• Si l'incubation dure 8 semaines (fig. 4), le nombre des colonies formées est en très forte augmentation. Lorsque le dénombrement intervient trop tôt la presque totalité des colonies présentes n'est pas prise en compte. Il atteint ou dépasse les 100 000 par gramme.

La population sténohaline, dans la gamme des faibles salinités, est limitée à un millier de germes par gramme. La population halotolérante, qui s'individualise après une dizaine de semaines, est multipliée par, au moins, un facteur 100 pendant le processus de l'anchoitage.

Sur la gélose salée à 25 %, il n'y a jamais de colonie formée après une semaine d'incubation. Les lectures effectuées après 8 semaines (fig. 4) mettent en évidence un phénomène semblable à celui remarqué après le même laps de temps sur les géloses G 3 : diminution du nombre pourtant faible des colonies pendant les 8 à 10 premières semaines de maturation, puis augmentation selon un facteur 100 pendant les semaines suivantes. La population halotolérante montre les mêmes fluctuations que précédemment, ici sur une gélose hypersalée.

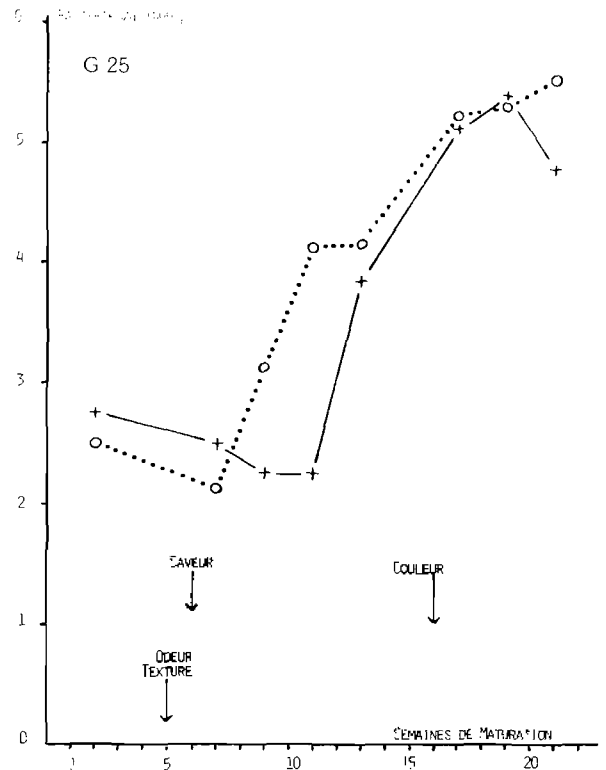
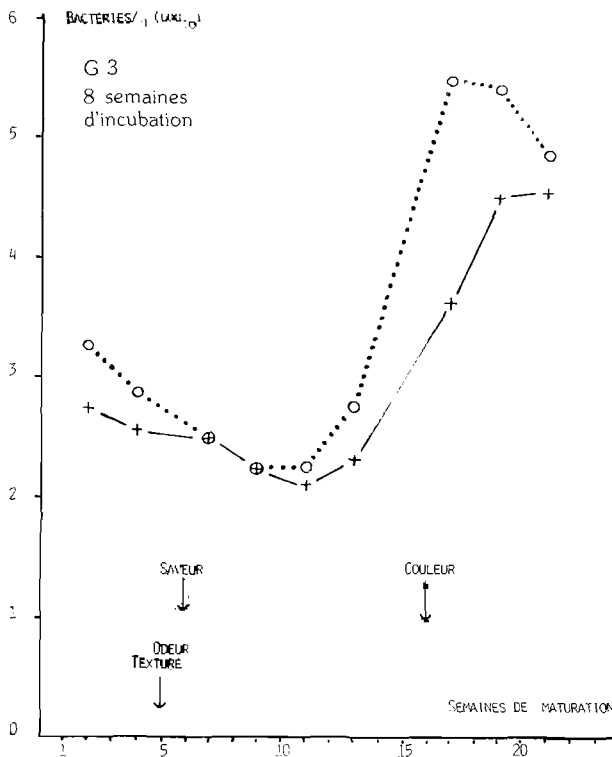


FIG 4. — A gauche, gélose G 3 (3 % NaCl) après 1 semaine et 8 semaines d'incubation à 20° C ; à droite, gélose G 25 (25 % NaCl) après 8 semaines d'incubation à 20° C (+ exemple 1, o exemple 2).



Le besoin en sel des souches isolées sur le critère de leur coloration montre leur déplacement vers un besoin de plus en plus impérieux. Les bactéries isolées sur la gélose G 3 au début de la maturation présentent les caractéristiques d'une halophilie modérée. Elles cultivent sur des géloses dont les salinités sont comprises entre 0 et 15 %. Celles isolées de la gélose G 25 en fin de maturation exigent au moins 15 % NaCl et se multiplient fort bien à 25 %. Ce sont des bactéries hyperhalophiles. Certaines d'entre elles ne se manifestent pas au début du processus. D'autres ne représentent que 2 % de la flore au bout de quatre semaines. Nous nous attarderons sur la dynamique de leur apparition après la 17<sup>e</sup> semaine de maturation et sur l'évolution de leurs caractères cultureux.

- A 20° C pendant les deux premières semaines d'incubation, il n'y a pas de culture visible sur les géloses. A la troisième semaine des colonies opaques de couleur crème apparaissent. Elles ont 0,5 et 5 mm de diamètre sur la gélose G 3 et 0,5 et 1 mm sur la gélose G 25. Sur la gélose G 3, il n'y a plus d'évolution. Les deux catégories de colonies non pigmentées représentent chacune 50 % de la flore totale. Sur la gélose G 25, après 5 semaines d'incubation, les premières colonies formées ont grossi. Il se forme des colonies non pigmentées de 1 mm de diamètre et des colonies roses, opaques ou transparentes, de 1 à 2 mm.

- A 28° C sur la gélose G 25, les colonies roses apparaissent dès la 3<sup>e</sup> semaine avec les premières colonies crèmes. La seconde génération de colonies non pigmentées ne se forme qu'après 6 semaines. L'élévation de la température d'incubation favorise l'apparition des colonies pigmentées et retarde la venue de la deuxième génération des colonies crèmes. Les proportions respectives de chaque type restent les mêmes. En fin de maturation, nous avons les mêmes types de colonies que RODRIGUEZ-VALERA *et al.* (1979). Le temps nécessaire à leur apparition est ici plus long parce que la température d'incubation est plus basse. La différence la plus importante réside dans le fait que toutes nos colonies sont constituées de bacilles à Gram négatif étant donné le haut niveau de salinité du milieu d'où ils sont isolés.

## Discussion.

Avant le début de cette étude, qui porte sur les anchois du Roussillon, nous pensions que l'anchoitage était un phénomène qui se parcourait d'autant plus rapidement que la température de maturation était plus élevée. Il semble que tel ne soit pas tout à fait le cas dans les conditions utilisées. Les processus sont différents suivant la température de mûrissement. A 28° C, il y a divergence vers la protéolyse des chairs (PIRAZOLI *et al.*, 1981) et la formation de produits volatils à l'odeur désagréable ; la coloration rose caractéristique n'apparaît pas. A 12° C, l'odeur reste très faible : il se forme des produits volatils agréables, mais en faible quantité. A cette température, il n'y a pas liquéfaction des chairs et la texture n'évolue pas. A 20° C, les poissons conservent leur aspect général ; le ramollissement est limité. L'odeur, la texture et la saveur apparaissent dans un délai raisonnable. La coloration franchement rose tarde à se former (4 mois) alors qu'une teinte beige s'est déjà installée dans la chair depuis quelque temps.

Organoleptiquement, les principaux caractères sont présents en moins de deux mois. La coloration était autrefois obtenue artificiellement à l'aide d'hydroxyde de fer (ocre rouge). Mais les dispositions relatives aux règles de préparation et d'étiquetage des produits à base d'anchois salés publiées au *Journal officiel* du 14 août 1982 ne permettent pas l'emploi de colorant. En effet, l'article 16 stipule que « les ingrédients mis en œuvre ne doivent pas avoir pour effet l'obtention ou le renforcement artificiel des caractères organoleptiques spécifiques des produits mentionnés au présent arrêté ».

En ce qui concerne l'évolution chimique, un rapport a été établi (MATTOS *et al.*, 1976) entre la quantité d'azote non protéique formé et la quantité d'azote total présent pour définir d'une manière peu coûteuse, simple puisque basée sur des analyses habituelles du Service des Contrôles de l'ISTPM (IFREMER) et répétitive, le seuil au-delà duquel l'anchois peut être considéré comme mûr. Ce rapport évolue en fonction du temps. Il n'a pas la même grandeur suivant le niveau de maturité exigé de la part des dégustateurs. A 20° C, si l'on s'en tient à l'odeur, à la saveur et à la texture, il est un peu inférieur à 25 % ; si l'on exige en plus une coloration naturelle, il avoisine alors les 40 %.

La littérature nous permet de connaître la qualité des anchois espagnols (LOPEZ-BENITO *et al.*, 1973) de même que l'influence de la température sur la conservation des anchois mûrs (PIRATI et GUIDI, 1971).

Les bactéries isolées au cours du processus de l'anchoitage ont deux origines : des bactéries marines introduites par le poisson et par le sel et des bactéries non marines amenées par les manipulations et le matériel. Sous l'effet conjugué de la pression et du sel, les poissons exsudent de l'eau. Il se forme une saumure saturée dans laquelle baignent les anchois et le sel en excès. Dans ce milieu hypersalé, une sélection s'exerce qui favorise les bactéries halotolérantes et hyperhalophiles. Une lecture trop hâtive (8 jours) des géloses de dénombrement peut amener à la conclusion erronée que la flore est en diminution presque constante (G 3) ou que le milieu est stérile (G 25). Il faut être patient pour admettre qu'après une diminution réelle par sélection, il y a augmentation d'une flore présente dans le milieu de maturation qui y trouve des conditions favorables.

Nous pouvons séparer une période d'anchoitage d'une quinzaine de semaines en deux parties de durée approximativement égales et plus ou moins nettement séparées. Pendant la première période : diminution, de  $10^3$  à  $10^2$ /g, du nombre total des unités aptes à former des colonies (U.F.C.), soit sur une gélose dont la salinité est voisine de celle de la mer, soit sur une gélose hypersalée. Pendant la seconde période : augmentation, de  $10^2$  à  $10^5$ /g, des flores qui s'adaptent ou qui trouvent des conditions convenables. Les

principaux caractères organoleptiques apparaissent pendant la première période alors que la flore présente, déjà peu nombreuse, est en voie de diminution. Peut-être la coloration est-elle due au développement tardif des colonies roses et rouges. Il ne semble pas que l'anchoitage soit la conséquence d'une prolifération bactérienne comme le sont d'autres aliments connus (choucroute, yaourt, vin, bière, nuoc-man) et comme MERCIER-MARQUES et LEPIERRE le soulignaient déjà en 1951.

#### BIBLIOGRAPHIE

- ALDEBERT (Y.) et TOURNIER (H.), 1971. — La reproduction de la sardine et de l'anchois dans le golfe du Lion. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **35** (1) : 57-75.
- ARBAULT (S.) et LACROIX (N.), 1971. — Aires de ponte de la sardine, du sprat et de l'anchois dans le golfe de Gascogne et sur le plateau celtique. Résultats de 6 années d'étude. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, (1) : 35-56.
- ARBAULT (S.) et LACROIX (N.), 1977. — Oeufs et larves de Clupéidés et Engraulidés dans le golfe de Gascogne (1969-1973). Distribution des frayères. Relations entre les facteurs du milieu et la reproduction. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **41** (3) : 227-254.
- ARNE (P.), 1931. — Contribution à l'étude de l'anchois (*Engraulis encrasicolus* L.) du golfe de Gascogne. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **4** (2) : 153-181.
- ARRIGNON (J.), 1966. — L'anchois (*Engraulis encrasicolus* L.) des côtes d'Oranie. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **30** (4) : 317-342.
- BALDRATI (G.), CASSARA (A.), GUIDI (G.), PIRAZZOLI (P.) et PORETTA (A.), 1975. — Tecnologia di trasformazione delle aciughe fresche e congelate. — *Ind. Conserve*, n° 4 : 261-266.
- BALDRATI (G.), GUIDI (G.), PIRAZZOLI (P.) et PORETTA (A.), 1977. — Processing technology of anchovies. Influence of pressing on the ripening of anchovies in salt. — *Ind. Conserve*, n° 3 : 221-234.
- BRISOU (J.-F.), 1980. — Les bactéries marines. — Collection de Biologie des Milieux marins, Masson édit.
- CAMPELLO (F.), 1983. — Tables de numération. — *Rapp. Techn. I.S.T.P.M.*
- COSNARD (M.), VALLET (J.-L.) et KABBAJ (F.), 1983. — Données sur le phénomène de la maturation de l'anchois. — *Science et Pêche*, n° 335.
- DIEUZEIDE (R.) et NOVELLA (M.), 1942. — Essai sur la technique des salaisons de poissons. — *Dir. Ec. Alg.* Bull. n° 80.
- ESTABLIER (R.) et GUTIERREZ (M.), 1972. — Aspectos bioquímicos de la maduración enzimática del boqueron (*E. encrasicolus* L.). — *Invest. Pesq.*, **36** (2) : 327-340.
1978. Actividad proteolítica del estómago, intestino y ciegos pilóricos del boqueron (*E. encrasicolus* L.). — *Inf. Tecn. del Inst. Invest. Pesq.*, n° 60.
- FAGE (L.), 1911. — Recherches sur la biologie de l'anchois (*Engraulis encrasicolus* L.) ; races, âge, migrations. — *Ann. Inst. Océanogr.*, Paris, **2** (4), 140 p.
- FAGE (L.), 1920. — Engraulidae, Clupidae. — *Rep. Danish. Oceanogr. Exped. Medit. ad. Seas 1908 - 10*, **2** (A), 136 p.
- FILSINGER (B.), ZUGARRAMURDI (A.), SANCHEZ (J.J.), TRUCCO (R.E.) et LUPIN (H.M.), 1977. — Variaciones químicas durante la maduración de anchoita salada. — *La Alim. Latino-am.*, **2** (108) : 26-31.
- FILSINGER (B.), BARASSI (C.A.), LUPIN (H.M.) et TRUCCO (R.E.), 1981. — An objective index for evaluation of the ripening of salted anchovy. — *Inst. Nacional de Tecn. Ind.*, C.I.T.E.P., 4728.
- FURNESTIN (J.), 1945. — Note préliminaire sur l'anchois (*Engraulis encrasicolus* L.) du golfe de Gascogne. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **13** (1-4) : 197-209.
- FURNESTIN (J.) et FURNESTIN (M.-L.), 1959. — La reproduction de la sardine et de l'anchois des côtes atlantiques du Maroc (saisons et aires de ponte). — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **23** (1) : 79-104.
- GRAIKOVSKY (J.T.), 1973. — Microbiology of cured and fermented fish. — In *Microbial Safety of Fishery Products*, C.O. CHICHESTER and D. GRAHAM, Acad. Press, éd. New York, 97-111.
- GUÉRAULT (D.) et AVRILLA (J.-L.), 1978. — L'anchois du golfe de Gascogne. Mise en évidence de l'existence de deux populations et bilan de nos connaissances sur la biologie de l'espèce. — *C.I.E.M., C.M. 1978/H* : 24, Comité des poissons pélagiques.
- GUTIERREZ (M.), ESTABLIER (R.), CALDERON (M.) et BRAVO (E.), 1980. — Estudios bioquímicos e histológicos del tejido muscular del boqueron (*Engraulis encrasicolus* L.) y la salmuera durante el proceso de anchoización. — *Invest. Pesq.*, **44** (3) : 471-483.
- JUGE (C.), 1971. — Les anchois du golfe du Lion. — *Comm. int. Explor. sc. Mer Médit., Rapp. et P.V.*, **20** (3) : 461-463.
- KABBAJ (F.), 1975. — Etude préliminaire de la maturation de l'anchois salé (*Engraulis encrasicolus* L.). Approche des problèmes liés à l'origine du poisson. — Rapport interne I.S.T.P.M.
- LEE (J.Y.) et JUGE (C.), 1965. — Observations morphologiques sur les anchois (*Engraulis encrasicolus*) du golfe du Lion. — *Com. Int. Expl. Sci. Méd.*, **18** (2) : 221-224.
- LOPEZ-BENITO (M.), GALLARDO (J.M.) et NAVARETTE (O.), 1973. — Estudio de calidad de semi-conservas de anchoa en aceite. — *Inf. Tecn. del Inst. Invest. Pesq.*, n° 10.
- MAITTO (A.), TORREJON (S.), GUS (P.) et RODRIGUEZ (S.), 1976. — Study on the utilisation of *Engraulis anchoita* for the preparation of anchovies, in *Handling, Processing and Marketing of Tropical Fish*. — *Tropical Product Institute* : 257-259.
- MERCIER-MARQUES (J.), 1953. — Le procédé industriel de l'anchoitage. — *Rept. Intern. Permanent Comm. Canned Foods*, Lisboa.
- MERCIER-MARQUES (J.) et LEPIERRE (C.), 1951. — Etudes sur l'anchoitage à l'Institut portugais des conserves de poissons. — *Proc. 2nd Inter. Cong. Canned Foods*, Paris, 35 : 1-5.
- PIRATI (D.) et GUIDI (G.), 1971. — Influenza della temperatura di conservazione sui filetti di acciughe all'olio. — *Ind. Conserve*, **46** : 103-107.
- PIRAZZOLI (P.), BALDRATI (G.), INCERTI (I.) et AMBROGGI (F.), 1981. — Technologie de transformation des anchois ; III. Influence de la température sur la maturation des anchois au sel. — *Industria Conserve*, **56** (2) : 77-81.
- QUIGNARD (J.-P.), HAMDOUNI (T.) et ZAOUALI (J.), 1973. — Données préliminaires sur les caractères biométriques des anchois (*Engraulis encrasicolus* Linné, 1758) des côtes de Tunisie et du lac Ichkeul. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **37** (2) : 191-196.
- RASS (T.S.) et CARRÉ (F.), 1980. — Les pêches maritimes. Complexes biogéographiques de production et provinces halieutiques. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **44** (2) : 89-117.
- VALLET (J.-L.), 1978. — Etude comparative de la maturation d'anchois frais et décongelés. — Rapport interne I.S.T.P.M.
- YANNOPOULOS (A.), YANNOPOULOS (C.) et SOTERIADES-VLAHOS (C.), 1973. — On the occurrence of ichthyoplankton in the Saronikos Gulf, Aegean Sea. I. - Anchovy and Sardines in 1969, 1970 et 1971. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **37** (2) : 177-181.