

ETUDE DE LA FRACTION AZOTÉE SOLUBLE DE L'ANCHOIS SALE EN COURS DE MATURATION

par Patrick DURAND *

Résumé

Ce travail a été entrepris dans le but de suivre et mieux définir les changements intervenant dans la chair de l'anchois après mise au sel, et par là même d'étudier la possibilité de mettre au sel de l'anchois de toute provenance préalablement congelé ou non. Différents paramètres ont été suivis régulièrement à divers stades de la maturation de l'anchois. Les paramètres physico-chimiques mesurés : concentration en NaCl, teneur en eau, A_w et pH, sont à l'équilibre et n'évoluent pas durant toute la période étudiée. Le pH relativement acide et l' A_w assez faible assurent une bonne protection contre un éventuel processus microbologique de putréfaction à température ambiante. La matière azotée par contre évolue de manière importante. La cinétique d'apparition des acides aminés libres et de l'azote non protéique reflètent les modifications intervenant au niveau des protéines musculaires. Ces modifications sont occasionnées par une activité protéolytique importante modulée par les conditions de milieu : pH, température, force ionique. L'activité enzymatique, déterminée par méthode de digestion d'une protéine substrat dans des conditions standardisées, décroît régulièrement en fonction du temps mais est encore non négligeable après trois mois de mise au sel. L'évolution de la chair de l'anchois mis au sel correspond à une protéolyse lente et partielle. Une bonne corrélation peut être faite entre les niveaux d'activité protéolytique mesurés et les résultats de l'analyse organoleptique faite sur des échantillons mis à mûrir à des températures différentes. La température, en modulant la protéolyse, influence la durée de maturation qui pourrait être mieux maîtrisée par un simple contrôle de ce paramètre. Enfin les difficultés à anchoiter rencontrées avec du poisson pêché à certaines périodes de l'année ou avec du poisson congelé pourraient être dues à des « déficiences enzymatiques » comme cela a été montré pour d'autres clupéidés.

Abstract

The goal of this paper was to follow the changes occurring in fish flesh after barrel-salting and to study the possibility of salting anchovy from different origins previously frozen or not. Different parameters have been followed regularly at various times of anchovy ripening. Concentration in NaCl and water content as well as values of water activity and pH are constant and remain quite stable during the entire study period. The relatively acid pH value and the quite

* I.S.T.P.M., Département Utilisation et Valorisation des Produits, Nantes.

low measured water activity level created good conditions for preventing microbial putrefaction at room temperature. In the other hand, nitrogen compounds changed significantly during ripening. The free amino-acids and non proteinaceous nitrogen increase indicated the modifications occurring in muscular proteins. These changes resulted in an important proteolytic activity modulated by the medium conditions, especially : pH, temperature and ionic strength. The enzymatic activity, measured by a proteinaceous substrate digestion method in standard conditions, slowed down regularly with time but was not negligible after a ripening period of 3 months. The maturation of anchovy flesh corresponds in fact to a slow and partial proteolysis. A good correlation can be made between the measured proteolytic activity levels and the organoleptic score of different samples ripened at various temperatures. The temperature factor, by modulating the proteolysis, influences the ripening time. From a practical point of view this time could be reduced by a simple control of this parameter. Lastly the difficulty encountered in the ripening of anchovy caught at different seasons or frozen could be due to « enzymatic deficiencies », as it has been shown with other clupeoids.

Introduction.

Cette étude s'intègre au thème de l'amélioration des techniques de conservation et de transformation des produits de la pêche. Elle a été entreprise dans le but d'étudier la possibilité de traiter l'anchois de toute provenance, préalablement congelé ou non et de permettre une meilleure définition du phénomène de maturation de l'anchois salé. L'anchois n'est pratiquement pas consommé à l'état frais, il est utilisé presque exclusivement pour la salaison. Le salage bien que pratiqué depuis l'antiquité est connu essentiellement de manière empirique (DIEUZEIDE et NOVELLA, 1951) et conduit quand il est bien mené à une maturation de la chair caractéristique, l'anchois est dit alors « anchoité ». Cette maturation ou « anchoitage » est une séquence complexe de réactions qui dépend de différents paramètres liés aux conditions physico-chimiques rencontrées en cours de maturation (température, teneur en sel, activité de l'eau, pH) et à la biologie du poisson (teneur en graisses, enzymes, bactéries...).

La biologie de l'anchois est essentiellement connue d'un point de vue « naturaliste » par des études systématiques ou de dynamique des populations (PAGE, 1937 ; LEE et JUGE, 1965 ; ARBAULT et LACROIX, 1971 ; GUÉRAULT et AVRILLA, 1978). Ces études nous renseignent sur le cycle biologique du poisson : périodes du frai, aires de pontes, relation taille-âge, croissance (RODRIGUEZ-RODA, 1977), et précisent l'influence de quelques facteurs du biotope (température de l'eau, salinité...) sur la reproduction du poisson. Un rapport de synthèse sur l'anchois (GUÉRAULT, 1979) donne quelques informations sur la pêche de ce poisson traditionnellement capturé au moment du frai, où ce petit pélagique présente une tendance supplémentaire à la grégairisation avec migration vers des aires de reproduction réparties autour de l'isobathe des 50 m.

La modernisation des engins de pêche (senne coulissante, écho-sondeur...), des considérations socioéconomiques (pêche de l'anchois en remplacement de la pêche d'autres espèces « traditionnelles » déficientes, etc.) ont conduit à la modification des périodes de pêche. Ce changement est surtout valable pour le secteur de pêche vendéen-breton. Les captures faites dans ce secteur offrent un produit qui présente le désavantage d'avoir une maturation très ralentie. Cette observation a d'abord dans un premier temps conduit à l'hypothèse de l'existence d'une différence spécifique étayée par des différences morphologiques (moyenne vertébrale) et biologiques (aire géographique de répartition grossièrement délimitée par une ligne île de Ré embouchure de la Gironde). S'il existe bien deux populations d'anchois dans le golfe de Gascogne dénommées d'une part « anchois du large » et « anchois littoraux d'eau saumâtre », cette dernière population n'est vraisemblablement jamais capturée en quantité importante (GUÉRAULT, 1979). La différence du comportement de maturation ne semble pouvoir s'expliquer de la sorte, et des considérations d'ordre écologique et biochimique doivent être prises en compte pour l'expliquer. Les travaux dans ce domaine sont moins nombreux, le suivi biochimique de l'anchois montre l'existence de fluctuations saisonnières très importantes en particulier du contenu lipidique (CONTRERAS *et al.*, 1976 ; SINOVIC, 1978 ; HAYASHI *et al.*, 1978 ; SHUL'MAN, 1979). La quantité de lipides de l'anchois de la mer d'Azov peut atteindre plus de 30 % du poids frais et présenter des variations saison-

nières de l'ordre d'un facteur 8. Ces variations sont moindres pour l'anchois péruvien (*Engraulis ringens*) et encadrent les valeurs moyennes de 3 à 12 %. Nous n'avons trouvé que peu de données concernant *Engraulis encrasicolus*; SINOVIC (1976) présente des résultats d'analyse chimique qui montrent clairement la corrélation qui existe entre le cycle sexuel du poisson et la variation temporelle des lipides mésentériques. Ces résultats sont à mettre en relation avec les observations empiriques faites par les saumeurs. Ces derniers constatent que la durée totale du processus de maturation est variable selon la saison. En particulier la maturation « démarre » quand une partie importante du contenu lipidique est éliminée à la surface des barils où s'effectue le traitement du poisson.

Une étude est donc en cours pour suivre l'évolution de la composition biochimique de l'anchois au cours de l'année et pour quantifier ces observations. Ces données pourraient apporter un élément de réponse au processus d'anchoitage lent ou mauvais; en se posant la question préalable de savoir si l'anchois anchoité, produit aux qualités organoleptiques bien définies, n'est pas spécifique d'une saison? Il semble cependant que l'on puisse produire toute l'année de l'anchois anchoité. Le processus étant plus ou moins rapide. Ces résultats d'analyse biochimique du poisson frais devraient permettre une mise en évidence de quelques facteurs simples permettant d'expliquer les variations de la cinétique du processus d'anchoitage.

1. Maturation de l'anchois salé.

Le tableau 1 résume différentes étapes du traitement du poisson. L'anchoitage consiste en l'évolution de la chair de poisson par traitement au sel, le phénomène essentiel est une hydrolyse partielle ménagée des protéines. Les premiers travaux concernant la nature de la protéolyse des poissons saumurés mirent en avant le rôle des microorganismes (VOSKRESENSKY, 1965), la flore

| Lieu | Opérations | Durée | Effets - Buts |
|---|--|---|---|
| à bord | Présalage à 3-5 % | quelques heures | Préservation du poisson |
| à l'usine | Salage en saumure du poisson entier à 25-30 % | de quelques jours à 1 ou 2 mois | Pénétration du sel dans la chair, exudation de liquide de constitution et de sang Formation de saumure |
| | Etêtage, éviscération avec passage éventuel dans une saumure propre | quelques heures | |
| | Egouttage - Triage | | |
| | Mise en fûts: salage définitif à 10-15 % en couches alternées: poisson - sel - poisson | de 4 à 18 mois | Anchoitage - maturation |
| | Pression de 20 à 100 kg | | Poisson complètement immergé dans la saumure |
| | Conditionnement au sel, en filet, en beurre ou crème | | |
| à l'usine, chez le détaillant ou le grossiste | Entreposage entre 5 et 10° C | 1 an au plus après la date de fabrication | |

TABLE 1. — Différentes étapes de traitement de l'anchois.

bactérienne impliquée étant d'origine variée: peau, ouies intestins, sel des barils... Différentes observations contredisent cette hypothèse. D'une part la vitesse de maturation diffère selon la saison, de plus il n'existe pas de corrélation entre l'état de cette maturation et la croissance bactérienne. D'autre part, les conditions de milieu détruisent presque totalement la flore psychrophile et protéolytique originelle pour sélectionner des microorganismes halophiles tolérants ou

obligatoires. Ces populations se développent en quantité relativement faible (10^3 à 10^4 /ml de saumure ou d'extraits de poisson). Ces densités sont faibles pour expliquer une activité protéinase bactérienne qui ne devient sensible que pour des valeurs supérieures à 10^7 bactéries/ml (LISTON, 1965). Les densités estimées lors d'études antérieures effectuées à l'I.S.T.P.M. étaient respectivement de 10^4 à 10^5 bactéries/g (KABBAJ, 1975) et 10^3 à 10^6 bactéries/g (VALLET, 1978).

Des expériences faites avec des sprats maturés en mélange sel-sucre selon la méthode traditionnelle scandinave ont montré qu'il n'y avait pas de différences significatives entre des lots-témoins et des lots traités avec des agents bactéricides : rayon γ , formaldéhyde, tétracycline (KIESVAARA, 1975). S'il est maintenant pratiquement admis que la protéolyse n'est pas d'origine bactérienne, on ne peut pas exclure totalement le rôle des microorganismes qui pourraient intervenir dans l'élaboration de l'arôme. Cette protéolyse est le résultat conjugué de l'action de différentes enzymes : les cathepsines du muscle et les protéases du tractus digestif. Le muscle de poisson contient des cathepsines relativement actives capables d'hydrolyser 10 mg de protéines/h/g de tissu musculaire frais (SIEBERT, 1961)). L'activité catalytique de ces enzymes est fortement inhibée par une teneur élevée en sel mais ne disparaît pas totalement à des concentrations salines supérieures à 15 %. Les protéases du tractus digestif sont généralement nettement plus actives que les exopeptidases musculaires, et ont des activités endopeptidasiques du type

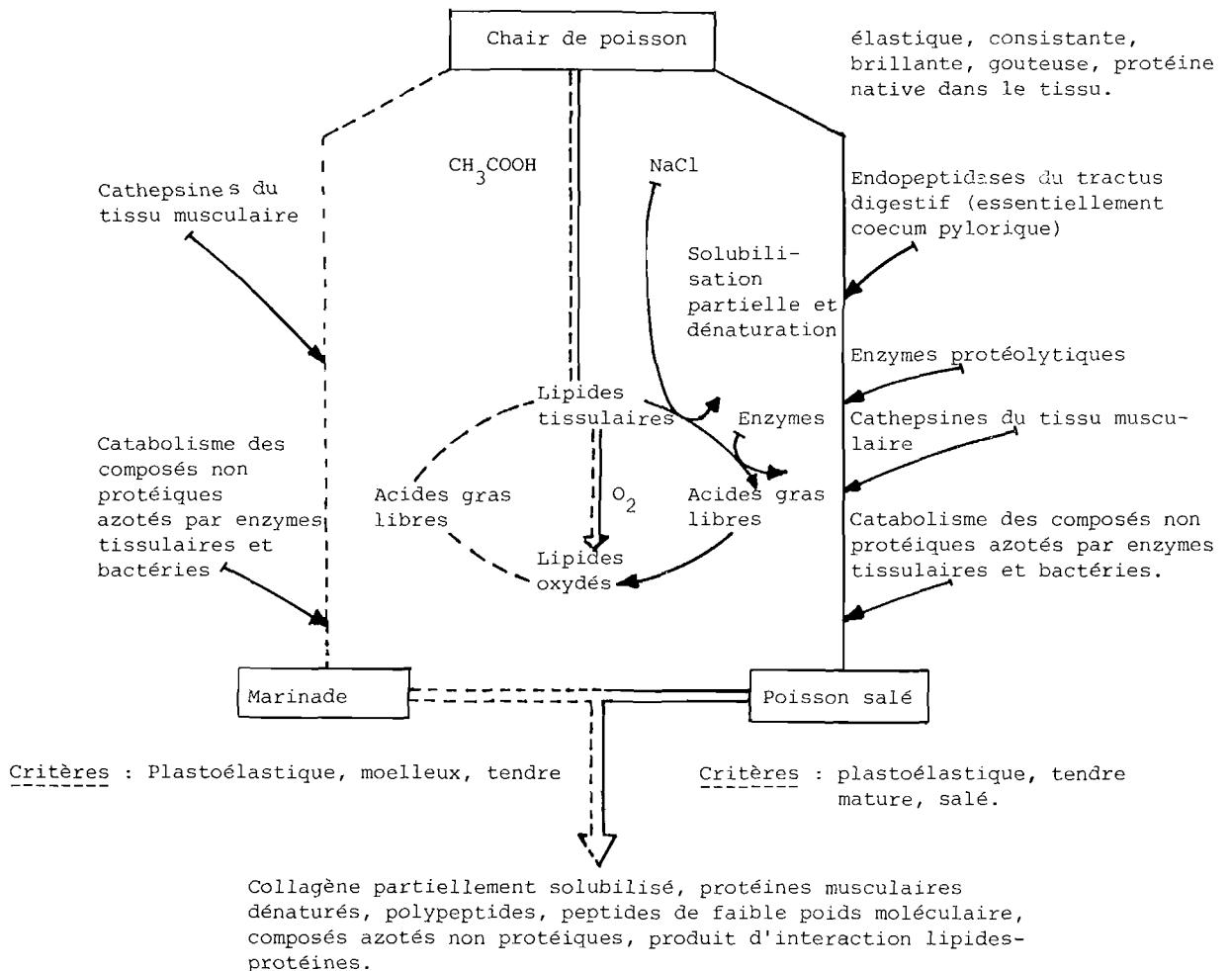


TABLE 2. - *Changements principaux intervenant au niveau de la chair de poisson frais lors de la conservation en marinade et en saumurage (SIKORSKI, 1980).*

trypsine. L'éviscération partielle, telle que celle pratiquée dans les ateliers de salaison, en élimine une partie, sinon les entrailles communiquent au poisson un goût amer. Par contre une éviscération parfaite avec lavage minutieux des poissons aboutit à une maturation incomplète sans apparition de la saveur caractéristique comme il a été montré dans le cas du sprat (ALM, 1964). Le tableau 2 illustre les changements principaux intervenant au niveau de la chair en comparant marinade et mise au sel.

La première partie de cette étude concerne l'évolution de la matière azotée. Pour ce faire, nous avons suivi un anchoitage « standard » avec du poisson considéré par les professionnels comme murissant normalement en mesurant au cours du temps les paramètres suivants : activité protéolytique, azote total, azote aminé total, azote aminé libre.

2. Matériel et méthode.

Les anchois étudiés ont été pêchés en Méditerranée, puis préparés dans les 24 h par l'entreprise "Papa Falcone" de Saint-Jean-de-Luz suivant la méthode de saumurage dite « carne à carne ». Le lot d'anchois a été réparti en 8 fûts de 30 kg et expédié par camion frigorifique à Nantes au laboratoire d'utilisation et valorisation des produits marins de l'I.S.T.P.M. Ces fûts sont entreposés dans des enceintes thermostatées. Les anchois sont pressés à l'aide d'une charge placée à l'extrémité du fût sur un couvercle en bois. Ce pressage d'environ 30 g/cm² est exercé pendant toute la durée de maturation. Les différents prélèvements de saumure ou d'anchois sont effectués dans la couche superficielle de poisson. Ceux-ci sont broyés à l'Ultraturrax en enlevant auparavant la peau et l'arête centrale. On obtient de la sorte une pâte homogène qui est conservé à 4° C. Nous avons suivi l'évolution de la matière azotée du poisson et de l'activité protéolytique de la saumure et du poisson au cours de la maturation.

Matière azotée.

L'azote total et l'azote non protéique sont déterminés par la méthode de Kjeldahl. Les résultats obtenus sont rapportés à la masse de matière sèche et exprimés en mg d'azote par g de matière sèche dessalée, à $\pm 0,5$ mg N₂. Les acides aminés libres et totaux sont extraits en suivant la méthode de BALDRATI *et al.* (1975) et dosés colorimétriquement selon la méthode de Folin-Ciocalteu. Les résultats sont exprimés par référence à une gamme étalon tyrosine en mg de tyrosine par g de matière sèche dessalée.

Activité protéolytique.

Principe.

Le dosage de l'activité protéolytique est basé sur l'estimation de la quantité d'acides aminés ou de petits peptides solubles formés par hydrolyse, lorsqu'une protéase ou un mélange de protéases est mis en présence d'une protéine substrat comme la caséine ou l'hémoglobine. Ces enzymes réagissent avec le substrat dans des conditions standardisées. La réaction est stoppée par addition d'acide trichloracétique (TCA) qui fait précipiter les protéines. La densité optique des fragments restant en solution permet de mesurer l'activité enzymatique.

Extraction.

Les protéases du poisson sont extraites à l'eau distillée. 20 g de broyat sont repris dans 100 ml d'eau distillée pendant 60 secondes au Waring blender. Après 15 h à 0° C, le mélange est centrifugé (30 mn à 0° C à 18 000 tours/mn) puis filtré et stocké à 0° C au réfrigérateur. Les protéases présentes dans la saumure sont obtenues directement par filtration, le filtrat est conservé à 0° C.

Solutions.

Substrat caséine (Hammarsten Merck) ou hémoglobine (Hansen Merck) à 2 % dans le tampon choisi.

Tampon Citrate 0,1 M (pH 2 à 6), Tris-HCl 0,1 M (pH 7 à 9).

TCA 10 % dans de l'eau distillée.

Essai.

L'incubation est faite dans un bain marie thermostaté à 37° C, 1 ml de tampon contenant x ml de la solution d'extraction est ajouté à 4 ml de solution de substrat. Après 60 mn la réaction est stoppée par 5 ml de TCA 10 %. Après 30 mn le précipité est centrifugé (15 mn à 5 000 tours .mn⁻¹). le surnageant est filtré. On mesure la densité optique au spectrophotomètre (Phillips Pye Unicam SP 1 800) à 275 nm longueur d'onde correspondant aux pics d'absorption des amino-acides aromatiques (tyrosine, tryptophane). Parallèlement un blanc est réalisé dans les mêmes conditions en ajoutant les 5 ml de TCA avant l'extrait de poisson ou de saumure. Par différence de densités optiques entre l'essai et le blanc on peut estimer la quantité d'acides aminés ou de petits peptides libérés par hydrolyse enzymatique. Pour chaque mesure, on réalise le dosage en triple afin d'obtenir une précision satisfaisante.

L'activité enzymatique est exprimée en référence à l'absorption d'une solution de tyrosine de concentration connue. En présence d'un substrat protéique tel que la caséine ou l'hémoglobine, le pouvoir protéolytique est mesuré en unité arbitraire (U.A.). Une unité U.A. correspond à la quantité d'enzymes extraites du poisson ou de la saumure qui produit en une minute et dans les conditions du test un hydrolysats dont l'absorbance à 275 nm est la même qu'une solution de tyrosine à 1,5 mg l⁻¹.

Le nombre d'unités d'un extrait est donné par la relation :

$$n = \frac{DO \cdot f}{DO' \cdot t}$$

avec n : nombre d'unités arbitraires (U.A.), DO : densité optique de l'hydrolysats corrigé de la valeur de DO du blanc, DO' : densité optique d'une solution à 1,5 mg l⁻¹ de tyrosine, f : facteur de dilution de l'extrait, t : temps d'incubation.

En se plaçant dans les conditions standards du test il est ainsi possible de suivre l'évolution de l'activité protéolytique au cours de la maturation de l'anchois dans les différents fûts.

3. Résultats.

Concentration en NaCl, teneur en eau, activité de l'eau, pH : les premières analyses ont été effectuées une semaine après la mise au sel à l'usine (date de réception des fûts à Nantes). A ce stade, les paramètres physico-chimiques du milieu sont à l'équilibre et restent stables durant la maturation. Il serait souhaitable à l'avenir de pouvoir procéder à leur mesure sur l'anchois frais pêché et dans les premières heures qui suivent la mise au sel que nous considérons comme le temps zéro de maturation. L'évolution de la teneur en sel dans le poisson est rapide (quelques dizaines d'heures) comme le montre l'étude de la dynamique de pénétration du NaCl faite sur *Engraulis anchoita* par ZUGARRAMURDI *et al.* (1976, 1977).

Pour les lots d'anchois étudiés la concentration en NaCl dans la chair se stabilise à $16,4 \pm 0,8$ % de la matière humide et reste constante au cours de la maturation. La valeur de la constante d'équilibre est voisine de 0,6 et correspond aux valeurs habituellement mesurées lors du saumurage de l'anchois en saumure saturée avec $K_{eq} = \frac{(\text{NaCl}) \text{ poisson}}{(\text{NaCl}) \text{ saumure}}$. La teneur en eau est de 75 % pour l'anchois frais et se stabilise rapidement à 50 % après mise au sel.

L'activité de l'eau (A_w) est mesurée à l'aide d'un hygromètre électrique (Novasina-Jan 27). Les valeurs relevées sont voisines de 0,75 ($\pm 0,01$) et correspondent à celles déterminées par BALDRATI *et al.* (1977) lors de l'étude de l'influence du pressage sur la maturation de l'anchois. Comme pour les deux paramètres précédents (NaCl, % H₂O) l' A_w reste constante, ces trois paramètres étant interdépendants. Enfin le pH du milieu est acide et a une valeur à peu près identique pour la saumure et le broyat de chair de poisson, respectivement 5,2 et 5,3. Ces valeurs de pH et d' A_w assurent une bonne protection contre un éventuel processus microbologique de putréfaction à température ambiante.

Matière azotée.

L'évolution de la matière azotée au cours de la maturation de l'anchois est présentée figures 1 et 2. La quantité d'azote total (TN) dans la chair de poisson ne varie plus pendant

la période étudiée et se stabilise à une valeur moyenne de : $\overline{TN} = 12,1$ g d'azote / 100 g de matière sèche dessalée (MSD). Le taux d'azote non protéique (NPN) augmente régulièrement comme le montre la cinétique du rapport NPN/TN (fig. 1). Si l'on considère uniquement les acides aminés (fig. 2), la cinétique de production d'acides aminés libres (AAL) n'est plus linéaire. Comme pour l'azote total, la quantité d'acides aminés totaux (AAT) reste constante et encadre une valeur moyenne de : $\overline{AAT} = 217 \pm 6,9$ mg de tyrosine / 100 g MSD. Le rapport AAL/AAT tend vers une valeur de 20 % considérée par BALDRATI *et al.* (1975) comme critère de maturation de l'anchois saumuré (en pointillé fig. 2). Si l'on se réfère aux résultats d'analyse organoleptique (tabl. 3) obtenus par un jury restreint de dégustateurs en suivant la cotation décrite par FELSINGER (1981), en 9^e semaine (obtention du seuil de 20 % du rapport AAL/AAT) l'anchoitage n'est pas terminé, en particulier la texture et la couleur ne sont pas pleinement satisfaisantes. La prise en compte de la valeur de 33 % du rapport NPN/TN proposée par MATTOS *et al.* (1976) comme critère biochimique d'anchoitage correcte est vérifiée. Cette valeur est obtenue après un peu plus de 12 semaines de mise au sel. A ce stade le produit présente les caractères anchoités convenables (ligne 20° C, tabl. 3).

| Temps de mise au sel (semaines) | | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
|---------------------------------|-------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|
| odeur | 12° C | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | 20° C | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 4 | 4 | 4 | 5 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | 28° C | 0 | 2 | 2 | 4 | 5 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 7 | 7 | 7 |
| saveur | 12° C | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 20° C | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 4 | 4 | 4 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | 28° C | 0 | 1 | 1 | 2 | 4 | 4 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 7 | 7 |
| texture | 12° C | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 20° C | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 4 | 4 | 4 | 4 | 6 | 6 | 6 |
| | 28° C | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 4 | 6 | 6 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| couleur | 12° C | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 20° C | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 4 | 4 | 4 | 4 | 5 |
| | 28° C | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 4 | 4 | 6 | 6 | 6 | 7 | 7 |

TABL. 3. — Résultats de l'analyse organoleptique. (0) poisson salé [rais, (2) neutre, (4) apparition du caractère anchoité, (6) poisson mûr, (8) stade de post-maturation.

Il semble cependant difficile de trouver un critère biochimique absolu de détermination d'un état de maturation correct. L'anchoitage est une séquence de réactions biochimiques complexes où l'évolution de la matière azotée joue un rôle déterminant, mais d'autres composés, en particulier les lipides qui représentent environ 15 % de la MSD, peuvent aussi avoir un rôle important. Si l'on compare la validité des deux critères précédents (20 % du rapport AAL/AAT et 33 % du rapport NPN/TN) il semble que le dernier soit plus satisfaisant dans la mesure où un plus grand nombre de réactions biochimiques du métabolisme azoté soient prises en compte. En particulier celles faisant intervenir le catabolisme des acides nucléiques et des nucléosides (JONES, 1969) bien connues comme génératrices de substances formulant la saveur.

Activité protéolytique.

Une activité de type endopeptidasique est mise en évidence dans les fractions protéiques solubles extraites du muscle et de la saumure (fig. 3). Cette activité mesurée résulte très probablement d'un mélange d'enzymes : enzymes du tractus digestif, cathepsines du muscle... comme le montre les courbes de dépendance vis-à-vis du pH pour deux substrats : la caséine et l'hémoglobine (fig. 4).

L'influence de la température sur l'activité protéolytique est donnée figure 5. L'optimum d'activité est voisin de 55° C, en encarté figurent les résultats relatifs aux températures utilisées lors des essais technologiques. Une bonne corrélation peut être faite entre les niveaux d'activité protéolytique mesurés et les résultats de l'analyse organoleptique. Ainsi à 12° C, les anchois sont à un stade de maturation très peu avancé. L'activité protéolytique résiduelle mesurée dans des

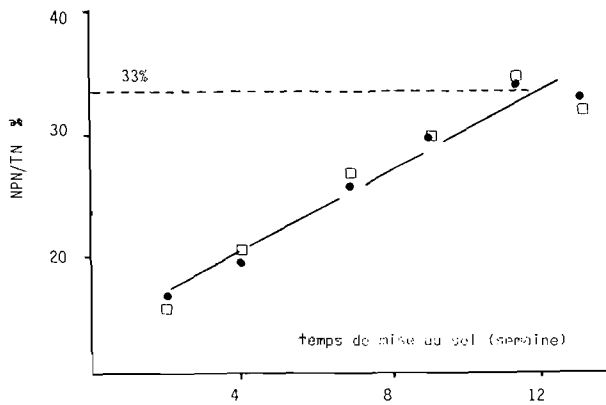


FIG. 1. — Cinétique du rapport NPN/TN; (●) lot A, (□) lot B, température d'entreposage 20° C; $\overline{\text{TN}} = 12,1\%$ msd.

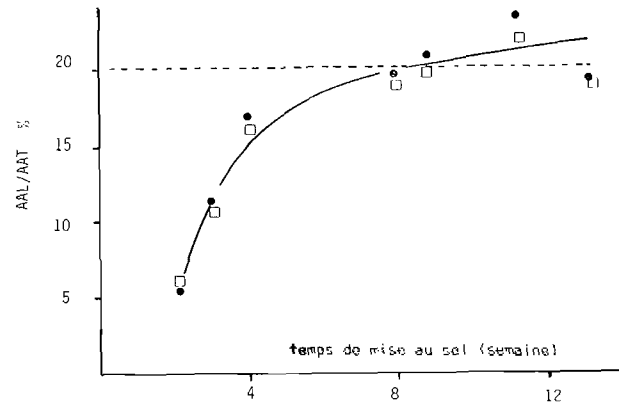


FIG. 2. — Cinétique de production des acides aminés libres; $\overline{\text{AAT}} = 217 \pm 6,9$ mg de tyrosine/100 g msd; (●) lot A, (□) lot B, 20° C.

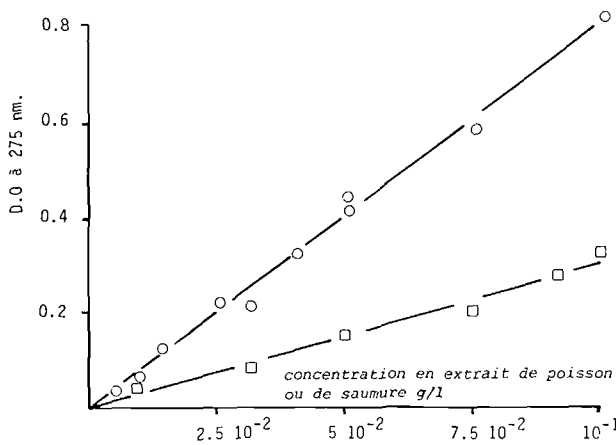


FIG. 3. — Mise en évidence de l'activité protéolytique; substrat caséine 2%; tampon tris HCl 0,1 M; pH 8,5; incubation 60 mn à 37° C.

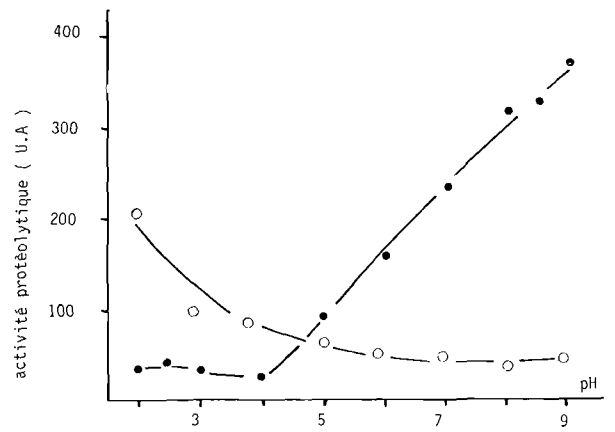


FIG. 4. — Dépendance vis-à-vis du pH de l'activité protéolytique; substrat 2% tampon citrate Tris HCl 0,1 M; incubation 60 mn à 37° C; (●) caséine, (○) hémoglobine.

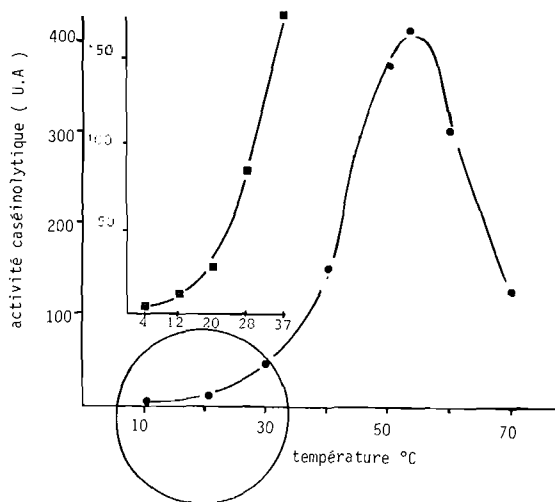


FIG. 5. — Effet de la température sur l'activité endopeptidasique; caséine 2%; Tris HCl 0,1 M; pH 8,5; incubation 60 mn à 37° C.

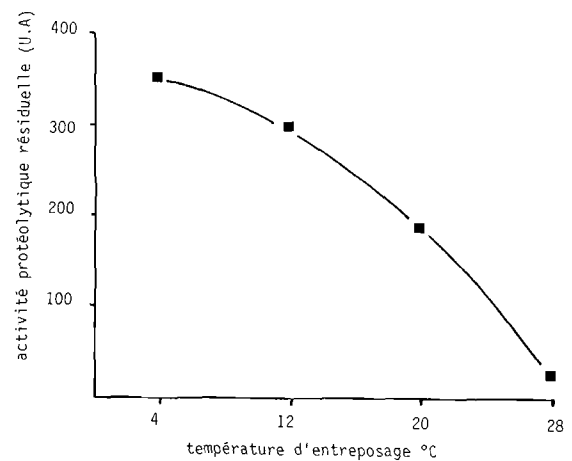


FIG. 6. — Effet de la température d'entreposage sur l'activité protéolytique; caséine 2%; Tris HCl 0,1 M; pH 8,5; incubation 60 mn à 37° C; temps de mise au sel: 12 semaines.

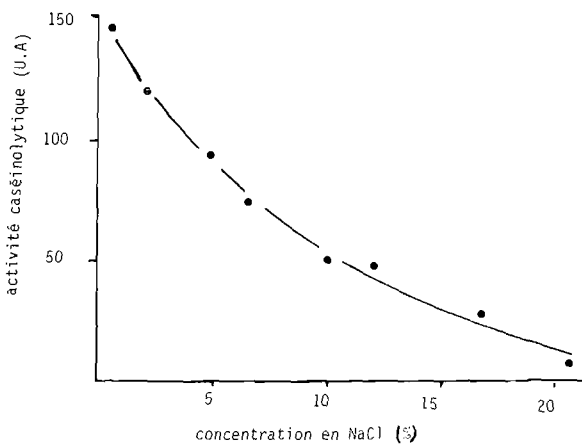


FIG. 7. — Effet de la force ionique sur l'activité protéolytique.

conditions standards d'incubation est inversement proportionnelle à la température d'entreposage (fig. 6), aux basses températures les molécules enzymatiques sont moins inactivées. Une étude plus complète de la stabilité des exo et endopeptidases de l'anchois en fonction de la température, en prenant en compte des températures négatives, permettrait d'apporter un élément de réponse sur les possibilités de traiter l'anchois préalablement congelé.

Enfin, on peut noter que les activités protéolytiques mesurées sont encore importantes après trois mois de mise au sel. Cette bonne stabilité est probablement liée à la concentration élevée en NaCl et au pH du milieu. Les protéases impliquées dans la maturation « fonctionnent » dans ces conditions à un niveau ralenti en regard de l'activité potentielle (fig. 4 et 7). Certains travaux (KLIBANOV, 1979) ont montré que ces conditions

étaient favorables à la stabilisation des activités enzymatiques.

Conclusion.

Les résultats des analyses bactériologiques faites parallèlement à cette étude (COULON, 1981) indiquent une très faible concentration de germes et confirment le rôle mineur des microorganismes dans la protéolyse partielle des tissus de l'anchois. Celle-ci est occasionnée par des activités endo et exopeptidasiques propres au poisson.

Il semble difficile de considérer un critère biochimique pour définir un état de maturation correct. La prise en compte des amino-acides n'est cependant pas à rejeter, ceux-ci jouent un rôle primordial dans l'apparition de goût dans les produits marins (KIRIMURA *et al.*, 1969). Une étude très détaillée faite sur le hareng montre que les caractéristiques organoleptiques du hareng saumuré correspondent à un certain niveau de concentration en amino-acides libres et une proportion donnée d'acides aminés acides et basiques (KIESVAARA, 1975). Ce type d'analyse pourrait être entrepris pour le contrôle qualité des semi-conserves à base d'anchois.

| semi-conserves et conserves anchois | Chiffre d'affaire H.T. en 10 ⁹ F | Tonnage traité () importation |
|---|--|-----------------------------------|
| Année 1979 | 1 413 97 | 113 550 t 5 273 t (29 %) |
| Année 1980 | 1 555 107 | 97 500 t 4 481 t (45 %) |

TABL. 4. — Place de l'anchois dans le marché des conserves et semi-conserves.

D'un point de vue pratique, la température joue un rôle important dans l'accélération du processus d'anchoitage en augmentant la protéolyse. La thermostatisation des entrepôts de salaison peut être considérée comme une solution simple à apporter pour diminuer les temps de maturation. Enfin les difficultés d'anchoitage rencontrées à certaines périodes de l'année pourraient être dues

à des diminutions saisonnières des activités protéolytiques comme cela a été montré chez d'autres clupéidés (SIKORSKI et LACZK, 1981). Un suivi sur une année de l'activité protéolytique des protéases de l'anchois est en cours pour vérifier s'il en est de même avec cette espèce. Si cette hypothèse se confirme avec l'anchois, une solution pour remédier à « ces déficiences enzymatiques » consisterait à ajouter des protéases exogènes. Des essais d'accélération d'anchoitage ont été entrepris dans ce sens en ajoutant différentes préparations enzymatiques lors de la mise en saumure : les protéases extraites de viscères d'anchois, de la papaine commerciale (V 200 rapidase) et un extrait de garos liquide à base de foie de maquereau. Ce dernier essai ne présente pas un caractère de nouveauté puisque cette pratique était déjà connue dans l'antiquité (KELAIDIS, 1949). Le traitement de denrées alimentaires par des protéases engendre souvent des problèmes d'amertume. Les analyses organoleptiques en cours devraient permettre de choisir la préparation enzymatique la plus adaptée à l'obtention d'un produit ayant les caractères de l'anchois salé traditionnel. L'anchois étant utilisé et transformé après une période plus ou moins longue de saumurage, le traitement enzymatique pourrait être une solution technologique pour diminuer ces périodes de stockage considérées comme une immobilisation de capitaux par les saleurs professionnels. De plus un tel traitement pourrait accroître la valeur ajoutée après transformation de ce produit qui en comparaison avec celle (espèces confondues) des autres poissons utilisés dans l'industrie des conserves et semi-conserves (tabl. 4) est déjà intéressante.

Manuscrit déposé le 6 décembre 1982.

BIBLIOGRAPHIE

- ALM (F.), 1964. — The ripening process in Scandinavian anchovy. — SIK rapport Goteborg, 147.
- 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.*, **35** (1) : 35-56.
- BALDRATI (G.), CASSARA (A.), GUIDI (G.), PIRAZZOLI (P.) et PORETTA (A.), 1975. — Tecnologia di trasformazione delle acciughe. I. Maturazione sotto sale di acciughe fresche e congelate. — *Ind. Conserv.*, **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. Conserv.*, **3** : 221-234.
- CONTRERAS (E.G.), GUZMAN (L.H.) et KARL (N.B.), 1976. — Analisis de la variacion estacional de los componentes quimicos de la anchoveta. — *Inf. Pesq. Inst. Fomento Chile*, **62** : 1-13.
- COULON (O.), 1981. — Contribution à l'étude de la maturation de l'anchois frais *Engraulis encrasicolus* L. — Rapport I.S.T.P.M., E.N.I.T.I.A.A., 50 p.
- DIEUZEIDE (R.) et NOVELLA (M.), 1951. — Essai sur la technique des salaisons de poissons. — *Doc. Rens. agric.*, n° 167 : 280 p.
- FAGE (L.), 1937. — La ponte et les races locales de l'anchois de la Méditerranée (*Engraulis encrasicolus* L.). — *Comm. int. Explor. Sci. Mer Médit.*, **10** : 67-71.
- FILSINGER (B.), BARASSI (C.), LUPIN (H.) et TRUCCO (R.), 1981. — An objective index for evaluation of the ripening of salted anchovy. — Inst. Nacional de Techn. Indus., Mar del Plata (soumis pour publication).
- GUÉRAULT (D.), 1979. — Synthèse de nos connaissances sur l'anchois du golfe de Gascogne. — Rapport I.S.T.P.M., 18 p.
- 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./H. : 24.
- HAYASHI (K.) et TAGAGI (T.), 1978. — Seasonal variations in lipids and fatty acids of japanese anchovy *Engraulis japonica*. — *Bull. Fac. Fish Kokkaido Univ.*, **6** (1) : 38-47.
- JONES (N.R.), 1969. — Meat and fish flavors. Significance of ribonucleotides and their metabolites. — *J. Agr. Food. Chem.*, **17** : 712-716.
- KABBAJ (F.), 1975. — Etude préliminaire de l'anchois salé (*Engraulis encrasicolus*) et approche des problèmes liés à l'origine du poisson. — Rapport I.S.T.P.M., 30 p.

- KELAIDITIS (C.C.), 1949. — The enzymatic acceleration during the maturing of the greek salted and press small fish. — *Prakt. Hell. Hydrob. Inst.*, **3** (2) : 29-40.
- KIESVAARA (M.), 1975. — On the soluble nitrogen fraction of barrel-salted herring and semi-preserves during ripening. — Technical Research Centre of Finland, VTT, n° 10, 99 p.
- KIMURA (J.), SHIMIZU (A.), NINIMIYA (T.) et KATSUYA (N.), 1969. — The contribution of peptides and amino-acides to the taste of foodstuffs. — *J. Agr. Food Chem.*, **17** (4) : 689-695.
- KLIBANOV (A.), 1979. — Enzyme stabilisation by immobilization. — *Anal Biochem.*, **93** : 1-25.
- LEE (J.-Y.) et JUGE (Cl.), 1965. — Observations morphologiques sur les anchois (*Engraulis encrasicolus*) du golfe du Lion. — *Com. Int. Expl. Sci. Méd.*, **18** : 221-224.
- MATTOS (A.), TORREJON (S.), GUS (P.) et RODRIGUEZ (S.), 1976. — Study on the utilisation of *Engraulis anchoita* for the preparation of anchovies. — *Handling, Processing and Marketing of tropical Fish*, p. 257-259.
- RODRIGUEZ-RODA (J.), 1977. — El boqueron, *Engraulis encrasicolus* L., del gofio de Cadiz. — *Inv. Pesq.*, **2** : 523-542.
- SHUL'MAN (G.E.), 1978. — Relationship of protein growth and fat accumulation to the increase of weight and calorificity in fishes of the genus *Engraulis*. — *Sov. J. Mar. Biol.*, **5** : 868-871.
- SIEBERT (G.), 1961. — Enzymes of marine fish muscle and their role in fish spoilage. — *In* : *Fish in nutrition*. — London : Fishing News Books Ltd, 80-82.
- SIKORSKI (Z.E.), 1980. — Structure and proteins of fish and shellfish. — *In* : *Advances in fish science and technology*. — London : Fishing News Books Ltd, 78-86.
- SIKORSKI (Z.E.) et LACZK, 1981. — Modification and technological properties of fish protein concentrated. — *C.R.C. Food Sci. Nutr.*, **4** (3) : 201-230.
- SINOVIC (G.), 1978. — On the ecology of the anchovy *Engraulis encrasicolus* L., in the Central Adriatic. — *Acta Adriat.*, *Inst. oceanogr. Ribar.*, **2** : 1-32.
- VALLET (J.-L.), 1978. — Etude comparative de la maturation d'anchois frais et décongelés. Rapport I.S.T.P.M. — E.N.I.T.I.A.A., 47 p.
- VOSKRESENSKI (N.A.), 1965. — Salting of herring. — *In* : *Fish as food*, **3**/BORGSTROM (G.) Ed. — New York : Academic Press, 107-131.
- ZUGARRAMURDI (A.) et LUPIN (H.), 1976. — Studies on anchovy salting. I. Equilibrium considerations and concentration profiles. — *Lat. Am. J. Chem. Eng. Appl. Chem.*, **6** : 79-90.
- 1977. — Studies on anchovy salting II Dynamics of the process. — *Ibid.*, **7** : 25-38.