

RECHERCHES TECHNIQUES. CHIMIE

/RECHERCHES SUR L'ALTÉRATION DU POISSON.

(Deuxième Rapport) /

par MAURICE BOURY,

Ingénieur agronome, Chef du Laboratoire de Chimie, à Paris.

SOMMAIRE.

INTRODUCTION.

POISSON FRAIS

	Pages.
<i>Procédés d'analyse</i> : macération, dosage de l'azote basique volatil, dosage de l'eau	403
<i>Stabilisation des échantillons</i> : technique de l'analyse; description des essais	406
<i>Caractères chimiques de fraîcheur</i>	413

POISSON CONSERVÉ EN GLACE.

Description des expériences; conclusions.....	416
---	-----

BIBLIOGRAPHIE.

INTRODUCTION.

✓ Dans un premier mémoire (1), il a été exposé une étude critique des méthodes de laboratoire susceptibles de donner des indications purement objectives sur l'état de fraîcheur ou le degré d'altération du poisson de mer. Les expériences faites ont montré que le procédé le plus sûr consiste à doser les formes volatiles de l'azote (azote ammoniacal et azote aminé) dans la chair du poisson. Une technique permettant l'exécution correcte de ce dosage fut décrite. En outre, les résultats numériques obtenus dans une série d'essais systématiques ont permis l'élaboration de tableaux fournissant, pour quelques espèces, la concordance entre le taux d'azote volatil basique et le degré d'altération. ✓

Depuis la publication de l'étude précitée, de nouvelles recherches relatives à l'altération du poisson ont été effectuées; nous nous proposons d'en relater les conclusions dans ce second mémoire. Les nouveaux essais se répartissent en deux groupes, selon qu'il s'agit de poissons n'ayant subi l'action d'aucun agent de conservation ou bien de poissons gardés en glace (1). Dans un prochain travail, nous envisagerons le cas de la chair soumise à un chauffage en récipients hermétiques.

I. — POISSON FRAIS.

Depuis la rédaction du précédent travail, je trouve deux articles à signaler sur le problème qui nous occupe; ils furent publiés dans la même année que le nôtre.

S. A. BEATTY et N. E. GIBBONS (2) ont vérifié que la teneur en ammoniacque et le nombre de bactéries s'accroissent d'une façon concomitante, avec le temps, dans le jus d'expression de chair de poisson tenu en observation à des températures déterminées (20°, 10° ou 1° C.). Ils en concluent que le taux d'ammoniacque de la chair peut constituer une mesure satisfaisante du degré de fraîcheur du poisson. En ce qui concerne l'églefin et la morue (les seules espèces étudiées), les auteurs canadiens indiquent que la teneur en ammoniacque du muscle est de 0,008 p. 100 (8 parties pour 100000) immédiatement après la mort du poisson; ladite teneur s'élève à 0,014 p. 100 environ lorsque les individus commencent à exhaler une forte odeur de poisson; elle atteint approximativement 0,020 p. 100 dès que l'odeur devient légèrement putride; elle monte à 0,030 p. 100 quand le caractère putride est bien marqué. Cette relation entre les caractères organoleptiques et la teneur en ammoniacque est indépendante de la température entre 33° F. et 58° F. (soit entre 0°5 et 14°5 C. environ). En général, la chair de morue ou d'églefin propre à la consommation devrait contenir moins de 0,016 p. 100 d'ammoniacque (2).

(1) Ces essais furent exécutés avec la collaboration de M. J. SCHVINTER, ex-chimiste au laboratoire de l'Office des Pêches à Paris.

(2) Les auteurs cités ici ne font pas connaître la méthode d'analyse employée; on peut donc se demander si le produit dosé, qu'ils dénomment « ammoniacque », n'est pas en réalité l'azote volatil basique, lequel contient une proportion notable d'azote aminé à côté de l'azote ammoniacal.

S. A. BEATTY et N. E. GIBBONS ont encore constaté que chez divers individus de même espèce, pris dans le même état de fraîcheur, les teneurs de la chair en ammoniacque sont sensiblement égales. Par contre, pour un même individu, le taux d'ammoniacque s'accroît selon des vitesses qui diffèrent notablement avec la partie considérée dans le corps du poisson; l'accroissement est particulièrement rapide pour les branchies, dont la corruption se manifeste dans un laps de temps relativement bref après la mort de l'animal.

F. LUCKE et W. GEIDEL (3) déclarent de leur côté que le seul caractère chimique constituant une base sûre pour apprécier l'état de fraîcheur du poisson est représenté par la teneur en azote basique volatil, laquelle augmente progressivement avec le degré d'altération. Cette teneur est déterminée en mettant 5 à 10 grammes de chair finement divisée dans le ballon d'un appareil distillatoire, avec 300 cm³ d'eau et 1 à 2 grammes de magnésie; les composés basiques qui distillent sont recueillis dans de l'acide sulfurique décinormal.

D'après les résultats obtenus avec des poissons d'espèces diverses (hareng, saumon, etc.), les auteurs allemands indiquent que la proportion d'azote basique volatil pour 100 grammes de chair est d'environ 20 milligrammes chez le poisson bien frais; un taux de 50 milligrammes correspond à l'état d'altération complète. Le taux limite pour du poisson encore propre à la consommation serait d'environ 40 milligrammes.

*
* *

Nos récentes expériences sur le poisson frais sont relatives à trois points :

- 1° Modifications apportées dans les procédés d'analyse;
- 2° Recherche d'un moyen de stabilisation des caractères chimiques des échantillons destinés à l'analyse;
- 3° Détermination de nouvelles données sur les caractères chimiques de fraîcheur chez quelques espèces.

PROCÉDÉS D'ANALYSE.

Notre système d'analyse fut soigneusement étudié lors de nos premières expériences; aussi, depuis celles-ci, nous n'avons pas jugé à propos d'apporter aucune modification fondamentale aux procédés déjà décrits (1). Les perfectionnements que nous avons cru bon d'introduire ne concernent que des points de détail; ils ne répondent en général qu'à un souci de simplification et de commodité d'exécution des opérations. Je me bornerai donc à indiquer ici les modifications réalisées; le lecteur est prié de se reporter au premier mémoire pour la description générale et la discussion des procédés d'analyse.

Macération.— Elle est pratiquée sur un échantillon moyen de chair préalablement hachée; il est utilisé 1000 grammes d'eau pour 200 grammes de chair. L'eau ajoutée n'est plus chauffée comme dans les premiers essais, mais la durée d'agitation est prolongée.

Dans un pot en grès d'une capacité de 1200 cm³, à fermeture hermétique, introduire un

pois déterminé de chair (150 g) avec un poids égal d'eau à la température ordinaire, un peu de thymol en poudre comme conservateur (1 g p. 100 g de chair) et plusieurs grosses vis à tête carrée pour provoquer la dilacération (compter une vis d'un poids approximatif de 30 g p. 10 g de chair). Maintenir le pot pendant une heure et demie sur un agitateur mécanique. Ajouter ensuite un poids d'eau à la température ordinaire égal à 4 fois celui de la chair et agiter à nouveau mécaniquement pendant une heure.

La macération est enfin versée sur filtre épais et mou ou sur toile; il est inutile que le filtrat (désigné M dans notre mémoire I) soit limpide.

Dosage de l'azote basique volatil. — Les modifications ne se rapportent qu'à certains éléments de l'appareil distillatoire. Je donne ci-dessous la description de celui-ci (voir fig. 1) en affectant des mêmes lettres les parties similaires du nouvel appareil et de l'ancien; quelques éléments, qui ne sont pas toujours indispensables, se trouvent supprimés ici.

A : ballon à deux tubulures, de 2 litres de capacité.
B : ballon d'un litre, pourvu d'un col large et court, ainsi que d'une large tubulure à la partie inférieure.
C C' : système de tubes destiné à briser la mousse et à assurer le retour du liquide dans le ballon A.
C : tube de 8 millimètres de diamètre.
C' : tube de 20 millimètres de diamètre, terminé à sa partie supérieure par une ampoule de 30 millimètres percée dans la zone médiane de 8 trous de 6 millimètres de diamètre.

A : ballon à deux tubulures, de 2 litres de capacité.

B : ballon d'un litre, pourvu d'un col large et court, ainsi que d'une large tubulure à la partie inférieure.

C C' : système de tubes destiné à briser la mousse et à assurer le retour du liquide dans le ballon A.

C : tube de 8 millimètres de diamètre.

C' : tube de 20 millimètres de diamètre, terminé à sa partie supérieure par une ampoule de 30 millimètres percée dans la zone médiane de 8 trous de 6 millimètres de diamètre.

L'extrémité supérieure du tube C et l'extrémité inférieure de C' traversent un bouchon de caoutchouc à deux trous qui est engagé dans la tubulure inférieure du bal-

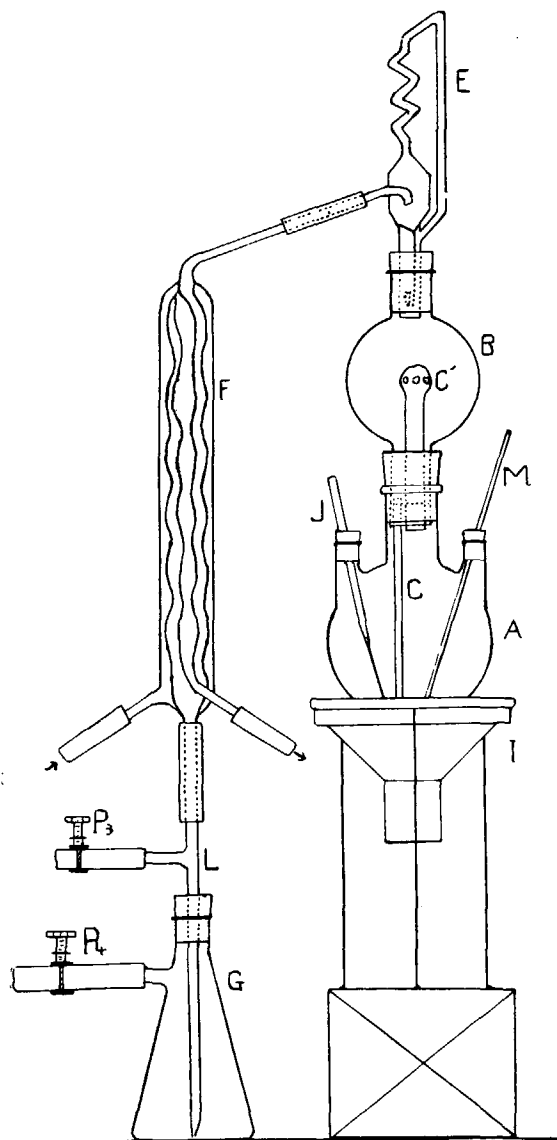


Fig. 1.

Appareil distillatoire pour doser l'azote volatil.

on B. Cette tubulure pénètre dans le large trou d'un second bouchon de caoutchouc qui est assujéti dans le col du ballon A. Le tube C plonge dans la solution à distiller, tandis que la tête perforée de C' se trouve à peu près au centre du ballon B.

Ce système est peu fragile; il est aussi d'une construction et d'un nettoyage faciles.

Pendant la distillation, la mousse — si elle se forme en abondance — monte dans le tube pulvérisateur C' et se brise en sortant par les trous de la tête; le liquide recueilli par le ballon B retourne dans le ballon A par le tube C.

Lorsqu'on a affaire à des solutions moussant très peu, le système B, C, C' peut être remplacé par une simple allonge droite d'un litre.

E : tube séparateur à serpentin. Dans le nouveau modèle, les vésicules séparées et la vapeur circulent dans le même sens, tandis que dans l'ancien, elles devaient cheminer en sens contraires : cette nouvelle disposition améliore l'efficacité du séparateur et évite les risques d'engorgement.

La vapeur, avec les vésicules qu'elle peut entraîner, s'élève dans la partie droite du tube (diamètre de 15 mm), puis descend dans la partie en serpentin, où les vésicules se trouvent projetées sur les parois par la force centrifuge qui résulte du rapide mouvement hélicoïdal dont la vapeur est animée. La vapeur seule s'échappe par un tube soudé dans la partie latérale d'une ampoule terminant le serpentin, puis elle atteint le réfrigérant. Les vésicules séparées, ainsi que le liquide provenant de la condensation d'une petite fraction de la vapeur, vont se rassembler vers le bas de l'ampoule, d'où elles tombent dans le ballon B par l'intermédiaire d'un petit siphon. Celui-ci est soudé à la base de l'ampoule; il est constitué par une branche descendante longue et étroite (3 mm de diamètre extérieur) et par une branche montante très courte mais plus large que la première (6 mm de diamètre).

Le fonctionnement du séparateur est très satisfaisant, même avec un grand débit de vapeur, puisque la force centrifuge provoquant la séparation des vésicules est proportionnelle au carré de la vitesse de la vapeur.

F : grand réfrigérant à boules (6 à 8 boules) et à double circulation d'eau. Si l'eau circulante est suffisamment froide, il peut être inutile de refroidir par un mélange réfrigérant la fiole G qui recueille le distillat.

G : fiole conique tubulée pour filtration à la trompe (capacité de 750 cm³); elle est garnie de liqueur acide titrée.

I : bain-marie à niveau constant (pour un ballon A de 2 litres, le trou du bain-marie doit avoir 120 mm de diamètre).

J : rentrée d'air.

L : tube effilé plongeant dans la liqueur titrée; il est muni d'un tube latéral garni d'un petit tuyau de caoutchouc et d'une pince.

M : thermomètre indiquant la température du liquide soumis à la distillation (37 à 40°).

P₃ et P₁ : pinces à vis permettant de mettre à volonté l'appareil en communication soit avec l'atmosphère ambiante, soit avec la trompe à eau.

L'appareil qui vient d'être décrit fonctionne comme celui qui figure dans notre premier mémoire; il assure la distillation de 300 cm³ de liquide en une demi-heure environ.

Le dosage des formes volatiles de l'azote est toujours pratiqué de la manière indiquée en 1935⁽¹⁾.

(1) Notons que le thymol, qui peut être ajouté à la macération en qualité d'antiseptique, est entraînable par la vapeur dans le distillat. Sa présence en faible proportion dans une solution aqueuse — où il est d'ailleurs très peu soluble — ne

Dosage de l'eau dans la chair.— L'eau est entraînée par distillation avec du toluène, ou de préférence un mélange de toluène et de xylène (3 volumes du premier liquide pour 1 volume du second). Le ballon contenant les produits est chauffé directement par un bec de Bunsen muni d'un couronnement, au lieu d'être — comme précédemment — immergé dans un bain de chlorure de calcium, dont l'emploi offre de légères incommodités. Pour éviter que la chair adhère sur le fond du ballon et risque une pyrogénéation partielle, le ballon est d'abord garni de billes de verre presque jusqu'à moitié; la chair, préalablement divisée, est étalée sur cette couche de billes, puis elle est recouverte de toluène. Le ballon se trouve enfin attelé au tube mesureur surmonté d'un réfrigérant⁽¹⁾.

STABILISATION DES ÉCHANTILLONS.

Il peut être très utile de pouvoir garder pendant plusieurs jours des échantillons de chair de poisson dans l'état qu'ils présentent au moment de leur prélèvement. Cette stabilisation des caractères chimiques — et particulièrement de la teneur en azote basique volatil — est notamment susceptible de rendre service dans des expériences destinées à contrôler certains procédés de conservation du poisson.

A priori, il semble qu'une stabilisation satisfaisante puisse être obtenue en traitant la chair, préalablement divisée, par de l'alcool fort à l'ébullition⁽²⁾. En effet, l'alcool empêche alors non seulement tout développement microbien, mais aussi l'action des diastases préexistantes qu'il précipite. Néanmoins, nous avons tenu à contrôler l'effet conservateur de l'alcool employé dans des conditions déterminées.

Comme l'alcool est assez coûteux et que le traitement d'une série d'échantillons provoque la consommation d'une quantité relativement élevée de ce produit, nous avons essayé de n'en utiliser qu'une proportion aussi réduite que possible (100 cm³ d'alcool à 96° pour 100 g de chair fraîche). En outre, l'emploi d'un réactif solide, mis en solution aqueuse, pouvant offrir des avantages pratiques, il fut recherché dans quelle mesure la conservation des échantillons serait assurée par l'acide trichloracétique.

Lorsque l'échantillon de chair est présenté au laboratoire dans un liquide conservateur, alcoolique ou aqueux, il n'est plus possible d'exprimer les résultats en tenant compte des proportions d'azote total et d'eau dans la chair, suivant la méthode exposée dans le mémoire I. Commençons donc par indiquer la technique adoptée pour l'analyse d'échantillons soumis à un traitement stabilisateur.

Technique de l'analyse.

La méthode consiste à effectuer tous les dosages (azote total, azote non protéique, azote volatil, eau) à partir de volumes déterminés de macération. La condition essentielle est que la

gène pas le titrage de l'azote volatil total ni celui de l'azote ammoniacal; mais il convient d'expulser le thymol, par ébullition prolongée, de la portion de distillat destinée au dosage direct de la triméthylamine (le thymol formerait avec l'acide nitreux du nitrosothymol, qui se décomposerait partiellement lors de la seconde distillation).

(1) Sur le dosage de l'eau par entraînement, signalons l'intéressant travail de J. LEYMARIE (*J. Pharm. Chim.*, 1934, 20, 385-400 et 443-461).

(2) Ce moyen a d'ailleurs été recommandé par M. le Professeur Gabriel BERTRAND.

macération de chair puisse être mise sous forme d'une bouillie suffisamment fine et homogène pour permettre d'effectuer à la pipette une série de prélèvements de compositions identiques.

Notons à ce propos que la technique qui va être décrite n'est pas applicable à la chair crue, non traitée par un réactif approprié, parce que celle-ci ne se prête pas à la préparation d'une pulpe fine.

Macération. — Dans le flacon renfermant l'échantillon, il est commode de trouver un poids de chair juste suffisant pour l'exécution des opérations analytiques (150 g environ). Faire passer le contenu total (chair hachée et liquide conservateur) dans un pot en grès de 1200 cm³, à fermeture hermétique; rincer à quelques reprises l'intérieur du flacon avec de petites portions d'eau que l'on verse ensuite dans le pot en grès; ajouter des vis; obturer l'ouverture du pot et soumettre celui-ci à l'agitation mécanique⁽¹⁾. La préparation de la macération se poursuit alors de la manière déjà décrite: au bout d'une heure et demie d'agitation, ajouter un poids d'eau égal approximativement à 4 fois le poids (présumé ou connu) de chair fraîche, puis agiter encore mécaniquement durant une heure.

Remarquons que dans la technique précédemment indiquée, il importe de mettre en œuvre des poids de chair et d'eau exactement déterminés, tandis qu'ici il peut suffire de prendre des quantités approximativement connues de ces produits, à seule fin d'effectuer la macération dans des conditions convenables et d'avoir une indication sur l'ordre de grandeur des quantités de substances soumises au dosage.

Quand la macération est prête, secouer énergiquement le pot et, aussitôt, transvaser rapidement la bouillie assez fluide qu'il contient dans un bécber de forme basse de 1 litre.

Plonger dans la bouillie — jusqu'à 1 cm environ du fond du bécber — une petite hélice (50 mm de diamètre) à axe vertical, actionnée par un moteur. L'hélice est mise en marche à une vitesse telle qu'il ne reste pas de dépôt de pulpe au fond du récipient, que la bouillie soit bien homogène et qu'il ne s'émulsionne pas de bulles d'air.

Tandis que la bouillie est homogénéisée par le mouvement de l'hélice, procéder aux prélèvements destinés aux dosages de l'azote total et de l'eau. Ces prélèvements sont effectués à l'aide d'une pipette à un trait, de 25 cm³, à pointe large (3,5 à 4 mm. de diamètre intérieur). Il est d'ailleurs inutile de connaître exactement la capacité de la pipette; il suffit d'utiliser le même instrument pour la série de prélèvements, puisque c'est le rapport entre la quantité d'azote total présent dans un certain volume de bouillie et celle d'eau contenue dans ce même volume, qui doit intervenir dans les calculs.

La bouillie est aspirée rapidement dans la pipette, son niveau est affleuré au trait⁽²⁾, puis le volume mesuré est recueilli dans un récipient approprié au dosage⁽³⁾ (La bouillie résultant de la macération sera désignée B.)

Une fois que les prélèvements destinés aux dosages de l'azote total et de l'eau sont effectués, la bouillie restante est jetée sur filtre en papier mou (on obtient ainsi la solution M).

(1) Dans nos essais, il était employé 150 cm³ de liquide conservateur pour 150 g de chair: l'addition d'eau avant agitation est donc inutile, en dehors de celle qui sert au lavage du flacon.

(2) Il est le plus souvent impossible de distinguer la partie inférieure du ménisque; on en fixera donc la partie supérieure.

(3) Comme la pipette se vide très vite, il est bon de maintenir sa pointe contre la paroi du récipient pendant 5 secondes après l'écoulement, afin d'avoir des prélèvements aussi conformes que possible.

Dosage de l'azote total. — Prendre 2 fioles de Kjeldahl de 300 cm³ (il est recommandable d'exécuter le dosage en double); introduire dans chacune 2 fois le contenu de la pipette et ajouter pour l'attaque 30 cm³ d'acide sulfurique pur à 66° B., 10 grammes de sulfate de potassium et 0,5 gramme de sulfate de cuivre.

Après attaque, transvaser le résidu dans le ballon d'un appareil distillatoire, diluer, puis alcaliniser avec de la lessive de soude à 36° B. (80 cm³ environ). Le distillat est reçu dans 25 cm³ d'acide sulfurique normal.

Dosage de l'eau. — Dans un ballon d'un litre, recevoir une fois le contenu de la pipette; ajouter 80 cm³ de toluène, 20 cm³ de xylène et quelques fils de verre (pour éviter les soubresauts) Atteler le ballon à un mesureur de 25 cm³ surmonté d'un réfrigérant. Chauffer à feu nu, avec un bec muni d'une couronne; comme la chair est sous forme de fines particules en suspension dans le liquide, son adhérence sur le fond du ballon n'est pas à redouter. A cause de cet état de division de la chair et de la présence de celle-ci en faible quantité seulement, la distillation est généralement terminée en une heure⁽¹⁾.

Lorsque la chair est conservée à l'aide d'alcool, il convient d'ajouter de l'eau à la bouillie B avant de procéder à la distillation, à l'effet d'abaisser le degré alcoolique du liquide au-dessous de 10. A défaut de cette condition, l'eau alcoolisée qui distille se sépare mal d'avec le mélange toluène-xylène dans le tube mesureur.

Le volume de bouillie (sensiblement 25 cm³) introduit dans le ballon de l'appareil distillatoire doit donc être additionné de 25 cm³ d'eau (exactement mesurés). Dans ce cas, il faut évidemment utiliser un mesureur de 50 cm³ et déduire 25 cm³ du volume d'eau alcoolisée recueilli.

En présence d'alcool, la détermination de la proportion de liquide total dans la macération est nécessairement un peu moins précise que le dosage de l'eau dans une macération purement aqueuse; ce léger défaut de précision peut être d'autant plus marqué que la proportion d'alcool employée pour la stabilisation est plus élevée⁽²⁾.

Dosage de l'azote non protéique — Le réactif utilisé pour la stabilisation provoque une précipitation plus ou moins complète des protéines. Mais afin d'avoir des résultats comparables dans les dosages de l'azote non protéique, ces déterminations sont toujours faites après défécation par l'acide trichloracétique à une concentration voisine de 4 p. 100.

La méthode appliquée fut décrite dans le mémoire I :

Mettre un volume v de liquide de macération (solution M) dans un récipient jaugé de capacité égale à $1,25 v$. Ajouter progressivement un volume $0,2 v$ de solution d'acide trichloracétique à 25 p. 100, en agitant constamment la fiole. Au bout d'une demi-heure, compléter au trait de jauge, agiter et filtrer (filtrat A).

(1) Il est prudent de surveiller le début de l'opération, parce qu'il s'y produit parfois une mousse abondante.

(2) L'expérience suivante donne une indication sur la grandeur de l'erreur possible : dans le ballon de l'appareil distillatoire, il est versé 40 cm³ d'eau alcoolisée à 10 %. Le mélange eau-alcool, recueilli dans le tube mesureur, est séparé d'avec le toluène surnageant par un ménisque net, au bout d'une nuit de repos; le volume lu est de 39,7 cm³.

Le dosage d'azote non protéique est effectué à partir de 30 cm³ de filtrat A (correspondant à 24 cm³ de solution M). L'azote ammoniacal provenant de l'attaque de Kjeldahl est recueilli dans 25 cm³ d'acide sulfurique 0,1 N.

Dosage de l'azote basique volatil. — Ce dosage est pratiqué suivant la technique déjà décrite, à partir de macération déféquée. La solution soumise à la distillation est saturée de carbonate de lithium, dont la solubilité dans l'eau est de 1 p. 100 environ vers 40°. Lorsqu'on emploie une liqueur déprotéinée par l'acide trichloracétique, il faut tenir compte de la quantité de carbonate de lithium nécessaire pour la neutralisation de ce réactif, soit 1 gramme environ de carbonate de lithium pour 4 grammes d'acide trichloracétique. On doit donc utiliser 2 grammes de carbonate de lithium pour 100 cm³ de filtrat A (celui-ci contient sensiblement 4 p. 100 d'acide trichloracétique).

Si l'on part de 500 cm³ de filtrat A — qui correspondent à 400 cm³ de solution M — l'azote volatil distillé est recueilli dans 25 ou 50 cm³ d'acide sulfurique 0,1 N, selon que le poisson analysé est présumé frais ou altéré.

Calcul des résultats. — Soit :

a le poids en grammes de l'azote total dans un volume *x* de bouillie B;

b le volume en centimètres cubes de l'eau totale (ou de l'eau alcoolisée) dans le même volume *x* de bouillie B.

Dans la macération, 100 grammes d'azote total correspondent à : $\frac{100}{a} b$ cm³ d'eau totale (ou d'eau alcoolisée).

D'autre part, désignons par *n* le poids en grammes de l'azote volatil dans *v* cm³ de liquide de macération (solution M). Si l'on confond, au point de vue du volume occupé, l'eau de la bouillie et la partie liquide de la macération, la quantité d'azote volatil qui correspond à 100 d'azote total est donnée par la formule : $\frac{100bn}{av}$ (F).

La proportion d'azote non protéique serait fournie par une formule identique.

Remarques. — Dans l'établissement de la formule ci-dessus, on confond eau totale de la bouillie et liquide de macération. Or, le volume *v* de liquide de macération comprend, en plus du volume d'eau (ou d'eau alcoolisée) *v*₀, des matières fixes cédées par la chair et, dans certains cas (stabilisation par l'acide trichloracétique) le volume ε_0 du produit stabilisateur. Comme les matières fixes provenant de la chair sont constituées par des substances protéiques (en suspension ou dissoutes) de volume ε_1 (mesuré à l'état sec) et des substances solubles non protéiques (azotées ou minérales) de volume ε_2 , on a : $v = v_0 + \varepsilon_1 + \varepsilon_2 + \varepsilon_0$.

La formule F donne donc un résultat entaché d'erreur par défaut, puisque cette formule ne serait correcte que si l'on y remplaçait la valeur de *v* par celle, légèrement plus petite, de *v*₀.

D'autre part, une autre erreur est commise lorsque l'on calcule le volume du liquide de macération qui correspond à celui de la liqueur déféquée, prélevé pour le dosage. Suivant le mode opératoire décrit précédemment, le coefficient $\frac{1}{1,25}$ sert à déterminer le volume *v* de solution M d'après le volume prélevé *V* de liqueur déféquée A; on pose donc : $v = \frac{V}{1,25}$.

Mais, en réalité, le volume de liqueur déprotéinée est inférieur à 1,25 v, ce dernier volume représentant la capacité de la fiole où se fait la défécation. Il faudrait déduire en effet de ce volume global celui des substances protéiques ε_1 qui se trouvent précipitées par l'acide trichloracétique.

Il s'ensuit que le rapport $\frac{V}{1,25}$ attribue à v une valeur légèrement trop faible; la valeur exacte serait : $\frac{V}{1,25} + \frac{\varepsilon_1}{1,25}$.

La seconde des deux erreurs qui viennent d'être signalées se présente donc en déduction de la première. En définitive, le seul facteur qui intervienne d'une façon constante et entière pour amoindrir l'exactitude des résultats calculés selon la formule F est figuré par le volume du résidu sec des substances solubles non protéiques⁽¹⁾.

Eu égard à la précision suffisante pour la signification des résultats obtenus, on peut estimer que le mode de calcul adopté ne comporte qu'une erreur négligeable.

Description des essais.

Expérience I. — Dans une première série d'essais, diverses portions d'un même échantillon de poisson furent soumises séparément à l'action de l'alcool bouillant, à celle de l'alcool froid et à celle de l'acide trichloracétique. Ce dernier réactif fut essayé à cause de ses propriétés précipitantes à l'égard des colloïdes azotés et de sa forte acidité; celle-ci assure un pH très bas, susceptible de gêner l'intervention des bactéries et de plusieurs diastases. D'autre part, l'acide trichloracétique intervenant au cours des opérations analytiques, il était intéressant de préciser son action en ce qui concerne les substances dosées.

Voici le mode opératoire :

a. *Alcool bouillant.* — Verser 150 cm³ d'alcool à 95-96° dans un erlenmeyer à large ouverture d'un litre. Couvrir le récipient avec un verre de montre et porter l'alcool à l'ébullition, en chauffant avec un bec muni d'une couronne. Faire tomber dans le liquide, au moyen d'un entonnoir tronqué, 150 grammes de chair finement divisée, préparée comme il est indiqué dans le mémoire I (p. 293). Poursuivre le chauffage pour ramener le liquide à une douce ébullition, qui est maintenue durant 3 minutes. Abandonner le contenu de la fiole au refroidissement, puis transvaser la totalité de la chair et du liquide alcoolique dans un flacon à large ouverture, bouché émeri, de 500 cm³, où l'échantillon est conservé en attendant l'analyse.

b. *Alcool froid.* — Dans un flacon, à bouchage émeri, contenant 150 cm³ d'alcool froid à 96°, introduire 150 grammes de chair finement hachée.

c. *Acide trichloracétique.* — Dans un flacon renfermant 150 cm³ d'une solution aqueuse d'acide trichloracétique à 5 p. 100, introduire 150 grammes de chair finement hachée.

(1) A titre indicatif, notons que dans 100 cm³ d'une solution provenant de la filtration sur toile d'une macération de merlan frais, non stabilisée, il a été trouvé 1,4 g. de matière sèche totale, dont 0,6 g. de substances solubles non protéiques.

Remarques. — 1. Pour les échantillons traités par l'alcool bouillant ou par l'acide trichloracétique, la chair se dilacère aisément en donnant une pulpe très fine, lors de l'exécution de la macération. Par contre, la chair mise dans l'alcool froid, de même que la chair non traitée, ne fournit pas facilement une bouillie bien fine; il en résulte que les prélèvements destinés aux dosages de l'azote total et de l'eau risquent de manquer d'homogénéité.

2. Si l'on compte que la chair de poisson renferme 75 p. 100 d'eau (teneur moyenne), dans le cas du traitement par l'alcool à 96°, le degré alcoolique du liquide total présent dans le flacon doit être de 56 environ. Après addition d'eau pour préparation de la macération, le titre alcoolique de la solution tombe à 17° environ.

Comme l'alcool provoque lui-même la précipitation de matières protéiques, l'addition d'acide trichloracétique dans le liquide de macération ne fournit qu'un précipité peu abondant.

3. Pour la défécation de la macération par l'acide trichloracétique, il a été tenu compte de la quantité de ce réactif déjà employée comme conservateur, avec la chair soumise au troisième traitement précité. Dans ce cas, l'addition d'acide trichloracétique n'a d'ailleurs pas provoqué la formation d'un nouveau précipité dans le liquide de macération.

4. Pour préciser les conditions de nos essais, nous avons mis en œuvre des quantités bien déterminées de chair et de réactif. Mais il est entendu que pour l'analyse, il suffit que les proportions de chair et de liquide conservateur soient connues avec une approximation très grossière.

Résultats. — Les trois types de traitement en cause furent appliqués comparativement sur de la chair de merlan, prise successivement en assez bon état de fraîcheur, puis au début de la corruption. Les échantillons traités furent gardés en présence de leurs liquides conservateurs respectifs, durant 15 à 20 jours, à une température moyenne de 20°, avant d'être analysés. A l'effet de contrôler par un témoin l'efficacité des procédés expérimentés, une prise de chair non traitée était immédiatement analysée, tandis que trois autres prélèvements subissaient les traitements précités.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau ci-dessous, qui indique les proportions d'azote non protéique et d'azote volatil basique p. 100 d'azote total, pour les différents cas marqués dans les quatre dernières colonnes.

ÉTAT.	AZOTE.	TÉMOIN.	TRAITEMENT.		
			ALCOOL FROID.	ALCOOL BOUILLANT.	ACIDE TRICHLORACÉTIQUE.
Frais.	Non protéique.....	12,1	14,9	13,5	24,8
	Volatil total.....	0,76	0,74	0,75	1,02
Altéré.	Non protéique.....	15,6	"	14,5	31,0
	Volatil total.....	3,07	"	2,53	3,47

Expérience II. — Une seconde expérience fut effectuée à partir d'un échantillon de maquereau modérément altéré. La chair fut soumise à l'action de l'alcool chaud, comme il est

indiqué ci-dessous; puis elle fut gardée durant 15 jours à une température de 22° environ, dans le flacon où elle avait été traitée.

Alcool chaud. — Dans un flacon à bouchage émeri, de 500 cm³, introduire 150 grammes de chair hachée, puis verser sur celle-ci 150 cm³ d'alcool à 95-96° bouillant. Boucher; agiter; laisser refroidir.

Ce traitement assure une bonne division de la chair pendant la préparation de la macération.

Les résultats de l'analyse sont relatés dans un tableau où ils se trouvent comparés aux données d'un témoin; les taux des formes de l'azote volatil furent déterminés suivant la méthode exposée dans le mémoire I; ils se rapportent à 100 d'azote total.

AZOTE.	TÉMOIN.	TRAITEMENT À L'ALCOOL CHAUD.
Non protéique.....	15,7	23,4
Volatil total.....	1,233	1,026
Ammoniacal.....	0,879	0,700
Aminé.....	0,344	0,336
Triméthylaminé.....	0,310	0,286

Conclusions. — 1. Il n'y a jamais concordance rigoureuse entre les résultats donnés par un échantillon conservé et ceux du témoin correspondant. Les divergences constatées peuvent être imputées tantôt à un défaut d'efficacité du traitement conservateur, tantôt à une influence défavorable de la technique de stabilisation sur la précision de l'analyse.

2. Dans l'ensemble, les traitements à l'alcool, suivant les conditions de nos essais, produisent une stabilisation assez satisfaisante, tout au moins en ce qui concerne l'azote volatil⁽¹⁾.

Après traitement par l'alcool froid (exp. 1) ou par l'alcool chaud (exp. 2), le taux d'azote non protéique peut encore s'accroître notablement, ce qui indique qu'un certain travail diastasique se poursuit dans la chair; mais la proportion d'azote volatil n'augmente plus. Ce point est essentiel, puisque c'est la teneur en azote volatil qui fournit le renseignement le plus précis sur le degré d'altération.

Néanmoins, le traitement à l'alcool bouillant est le plus recommandable, parce qu'il assure la meilleure stabilisation des formes de l'azote et qu'il prépare bien la chair à se réduire en pulpe fine pendant l'exécution de la macération.

3. En présence d'acide trichloracétique, le taux d'azote non protéique s'accroît rapidement; celui d'azote volatil s'élève moins vite, mais d'une façon tout de même notable. L'acide trichloracétique ne peut donc pas être retenu comme stabilisateur: la chair ou la macération, simplement traitées par ce réactif, doivent être analysées dans un bref laps de temps.

(1) Le taux d'azote volatil est généralement un peu plus faible pour les essais traités à l'alcool que pour les témoins. Cette anomalie peut tenir à diverses causes procédant des techniques de stabilisation et d'analyse, dont les effets s'additionnent (perte d'azote volatil pendant le traitement à l'alcool chaud; erreur par défaut dans le dosage de l'eau alcoolisée de la macération).

CARACTÈRES CHIMIQUES DE FRAICHEUR.

Nous allons reproduire ici plusieurs données obtenues depuis la publication du précédent mémoire ; elles sont relatives à la teneur de la chair en azote volatil, chez des poissons dont l'état est déterminé d'après les caractères organoleptiques. Il n'a plus été fait de titrage d'acides aminés, puisque les recherches antérieures ont montré que la connaissance de la proportion de ces produits ne représente pas un renseignement bien significatif en ce qui concerne le degré de fraîcheur du poisson.

Dans les tableaux qui suivent, l'état des échantillons analysés est noté selon les conventions adoptées dans le mémoire I (p. 315) :

Bon.....	B
Médiocre.....	M
Assez mauvais.....	AC

Le calcul de la proportion des formes volatiles de l'azote par rapport au quantum d'azote total de la chair (voir tableau II) constitue le mode d'expression le plus rationnel ; il permet les comparaisons les plus sûres entre divers résultats provenant d'échantillons analogues ou de natures différentes. Néanmoins, nous avons aussi rapporté les résultats d'une part à 100 de chair fraîche (tableau I), d'autre part à 100 d'azote non protéique (tableau III) : le premier

TABLEAU I.
RÉSULTATS P. 100 DE CHAIR.

N. MÉRO.	ESPÈCE.	ÉTAT.	AZOTE TOTAL.	AZOTE NON PROTÉIQUE.	AZOTE VOLATIL		
					TOTAL.	AMMO- NIACAL.	TRIMÉTHYL- AMINÉ.
17	Sardine.....	B	"	"	"	"	"
18	Sardine.....	B	"	"	"	"	"
19	Sardine.....	B	3,27	0,439	0,0306	0,0188	0,0013
20	Sardine.....	B	3,34	0,441	0,0326	0,0193	0,0023
		AC	"	0,461	0,0406	0,0318	0,0087
21	Maquereau.....	B	3,10	0,481	0,0172	0,0148	0,0020
		AC	"	0,533	0,0431	0,0338	0,0084
22	Maquereau.....	B	3,08	0,493	0,0172	0,0149	0,0023
		AC	"	0,475	0,0400	0,0254	0,0117
23	Maquereau.....	B	2,90	0,510	0,0180	0,0145	0,0031
24	Maquereau.....	B	3,22	0,461	0,0334	0,0210	0,0024
		M	"	0,474	0,0354	0,0302	0,0051
25	Dorade.....	B	3,22	0,367	0,0159	0,0124	0,0025
26	Limande.....	B	2,93	0,243	0,0102	0,0075	0,0018

TABLEAU II.
RÉSULTATS P. 100 D'AZOTE TOTAL.

NUMÉRO.	ESPÈCE.	ÉTAT.	AZOTE NON PROTÉIQUE.	AZOTE VOLATIL			
				TOTAL.	AMMO- NIACAL.	AMINÉ.	TRIMÉTHYL- AMINÉ.
17	Sardine.....	B	13,8	0,481	0,436	0,045	"
18	Sardine.....	B	14,8	0,646	0,510	0,136	0,133
19	Sardine.....	B	13,4	0,630	0,575	0,055	0,040
20	Sardine.....	B	13,2	0,676	0,578	0,098	0,070
		AC	13,8	1,216	0,952	0,264	0,260
21	Maquereau.....	B	15,5	0,555	0,479	0,076	0,065
		AC	17,2	1,390	1,090	0,300	0,270
22	Maquereau.....	B	16,0	0,560	0,485	0,075	0,075
		AC	15,4	1,299	0,824	0,475	0,380
23	Maquereau.....	B	17,6	0,622	0,499	0,123	0,106
24	Maquereau.....	B	14,3	0,726	0,652	0,074	0,074
		V	14,7	1,098	0,939	0,159	0,159
25	Dorade.....	B	11,4	0,493	0,384	0,109	0,077
26	Limande.....	B	8,3	0,347	0,257	0,090	0,062

de ces deux systèmes étant le plus fréquemment employé par les auteurs étrangers, nos résultats pourront ainsi être rapprochés aisément des leurs, au gré du lecteur; quant au dernier mode de calcul, il offre l'avantage de demander un travail analytique un peu plus simple que lorsque la teneur en azote total est prise pour base

Notes. — Les échantillons sont numérotés à la suite de ceux qui furent précédemment analysés: la nouvelle série de résultats commence donc avec le numéro 17.

Pour l'analyse, les échantillons de chair furent préparés comme il est indiqué dans le mémoire I (p. 293). Toutefois, dans le cas des échantillons n^{os} 17, 18, 22 et 23, la peau ne fut pas séparée de la chair, après rinçage, étêtage et enlèvement des viscères.

D'une façon générale, les dosages furent exécutés sur de la chair n'ayant subi aucun traitement préalable; seuls, les échantillons 17 et 18 ont été soumis à l'action de l'alcool bouillant pour n'être analysés qu'au bout de quelques mois.

Discussion des résultats. — Notre nouvelle série de résultats numériques ne fait que confirmer les conclusions déjà exposées (1) sur la relation existant entre l'état du poisson et la teneur en azote basique volatil, celui-ci étant considéré sous ses deux formes essentielles (ammoniacale et aminée).

TABLEAU III.
RÉSULTATS P. 100 D'AZOTE NON PROTÉIQUE.

NUMÉRO.	ESPÈCE.	ÉTAT.	AZOTE VOLATIL			
			TOTAL.	AMMONIACAL.	AMINÉ.	TRIMÉTHYL-AMINÉ.
17	Sardine.....	B	3,76	3,41	0,35	„
18	Sardine.....	B	4,36	3,44	0,92	0,89
19	Sardine.....	B	4,70	4,29	0,41	0,30
20	Sardine.....	B	5,12	4,38	0,74	0,53
		AC	8,81	6,90	1,91	1,88
21	Maquereau.....	B	3,58	3,09	0,49	0,42
		AC	8,08	6,34	1,74	1,57
22	Maquereau.....	B	3,50	3,03	0,47	0,47
		AC	8,43	5,35	3,08	2,47
23	Maquereau.....	B	3,53	2,83	0,70	0,60
24	Maquereau.....	B	5,08	4,56	0,52	0,52
		M	7,47	6,39	1,08	1,08
25	Dorade.....	B	4,32	3,37	0,95	0,67
26	Limande.....	B	4,18	3,10	1,08	0,75

Nous nous bornerons donc à relater ici quelques remarques concernant les deux espèces (Maquereau et Sardine) qui ont donné lieu à plusieurs analyses.

1. *Maquereau*. — Les nouvelles données recueillies sur cette espèce s'accordent bien avec celles qui furent précédemment publiées. En effet, chez les poissons en bon état de fraîcheur, analysés dans le présent travail, les taux d'azote volatil sont toujours au-dessous des valeurs limites antérieurement indiquées (mémoire I, tableau VI, p. 324) comme permettant de suspecter la qualité de fraîcheur du maquereau. Par contre, les taux trouvés pour des individus plus ou moins altérés (états AC ou M; échantillons nos 21, 22 et 24) sont supérieurs à ces limites.

2. *Sardine*. — En ce qui concerne les cinq spécimens en bon état analysés jusqu'alors⁽¹⁾, la proportion d'azote volatil la plus élevée atteint environ 0,68 p. 100 d'azote total; le taux maximum d'azote aminé étant 0,14. L'apparition de la corruption se traduit par une augmentation notable de la teneur en azote volatil total; l'accroissement relatif s'élève à 80 p. 100 par rapport au taux maximum pour le poisson en bon état. Quant à l'azote aminé volatil, sa proportion

(1) Échantillon n° 6, mémoire I, et échantillons nos 17 à 20, mémoire II.

chez le poisson légèrement corrompu vaut environ deux fois la teneur maximum chez la sardine fraîche.

Il est intéressant de noter que le rapport entre les taux respectifs des deux formes d'azote volatil présente des valeurs différentes pour la sardine et le hareng, bien que ces deux espèces appartiennent à la même famille ichthyologique. Dans la chair en voie de corruption, la production de substances aminées est en effet relativement plus importante pour le hareng que pour la sardine.

Remarque générale. — Pour compléter l'observation qui précède d'après l'ensemble des résultats obtenus, remarquons que chaque espèce paraît posséder une figure particulière d'altération, caractérisée par la répartition et les accroissements relatifs des proportions respectives des divers produits azotés de dégradation.

Cette remarque met en évidence l'intérêt à la fois pratique et spéculatif qui est susceptible de s'attacher à une étude suffisamment précise de l'altération du poisson.

Note sur la détermination de la teneur en azote aminé. — La teneur en azote aminé volatil est déterminée de deux façons :

1° La différence entre la proportion d'azote volatil total et celle d'azote amoniacal est désignée, en première approximation : proportion d'azote volatil aminé ;

2° Le dosage direct des amines tertiaires fournit un second résultat, mieux défini chimiquement que le précédent. Dans nos tableaux, il figure sous la mention : azote triméthylaminé.

Pour un même échantillon, les deux modes de détermination fournissent deux nombres séparés entre eux par un écart tantôt très faible ou même nul, tantôt assez sensible. Mais dans tous les cas, les deux valeurs précitées suivent des fluctuations pratiquement semblables, au fur et à mesure que l'altération se développe.

Lorsque l'on désire simplement une indication sur la teneur en azote aminé volatil, on peut donc se borner à en effectuer la détermination par différence. Le dosage direct des amines tertiaires n'est utile qu'en vue d'une étude bien précise.

II. POISSON CONSERVÉ EN GLACE.

Il est permis de supposer *a priori* que pour le poisson gardé en glace, comme pour celui qui est maintenu dans les conditions ordinaires, le développement de l'altération est accompagné par un accroissement de la proportion d'azote basique volatil. Néanmoins, il est intéressant de préciser, par l'expérience, la marche du phénomène en cause, lorsque le poisson se trouve enrobé de glace fondante.

Expérience I. — Un lot de merlans en excellent état de fraîcheur a été disposé en caissettes avec de la glace concassée. A l'effet de ralentir et de régulariser la vitesse de fusion de la glace, les caissettes furent placées dans une enceinte maintenue à une température comprise entre 0

et + 3° C. Le fond des caisses était à claire-voie pour permettre l'écoulement de l'eau de fusion au fur et à mesure de sa formation. La quantité de glace mise en œuvre fut largement suffisante pour que les poissons en fussent bien enrobés (plus de 10 kg de glace pour 5 kg de poisson, au départ de l'essai; en outre, un rechargement de glace fut effectué au bout de plusieurs jours).

Les merlans présentaient un poids moyen de 90 grammes. Leur chair contenait 81,4 p. 100 d'eau et 2,88 p. 100 d'azote total.

L'expérience dura 12 jours. Une première analyse fut faite au départ; une seconde, au bout de 7 jours; une troisième, le dernier jour.

Un tableau rassemble les résultats obtenus. Le premier prélèvement est noté zéro dans la colonne «durée»; les deuxième et troisième prélèvements sont repérés par le nombre de jours écoulés depuis le premier. L'état du poisson est qualifié — comme dans toutes les expériences antérieures — d'après l'ensemble des caractères organoleptiques (B : bon; AB : assez bon; M : médiocre). Les résultats numériques sont rapportés à 100 d'azote total de la chair.

Ces résultats ont servi à établir un graphique (voir fig. 2) destiné à montrer clairement l'accroissement progressif de la proportion d'azote volatil. Dans ce graphique, la durée de l'essai en jours est portée en abscisse; la proportion d'azote volatil est marquée en ordonnée. Le taux de chaque forme d'azote volatil est suivi par un tracé particulier.

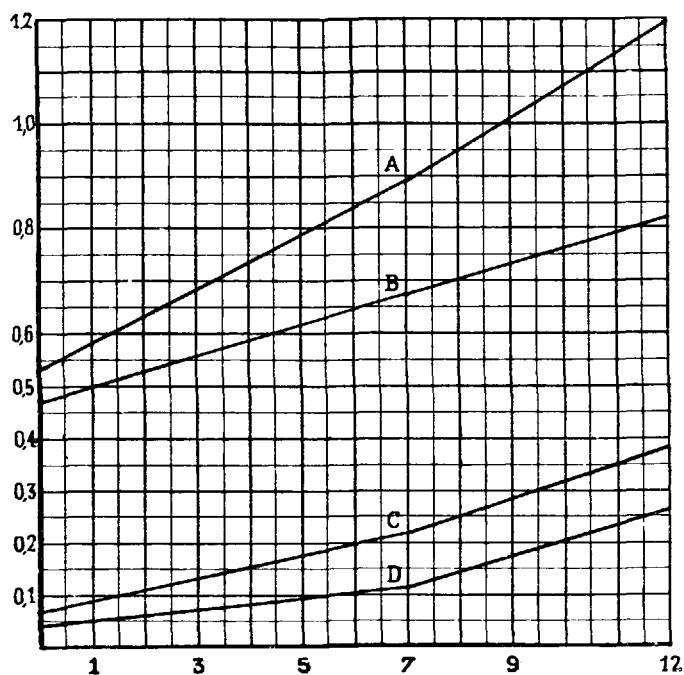


Fig. 2.

Abscisses : Nombre de jours.
Ordonnées : Taux d'azote volatil.
A = Azote volatil total.
B = Azote ammoniacal.
C = Azote aminé.
D = Azote triméthylaminé.

DURÉE.	ÉTAT.	AZOTE NON PROTÉIQUE.	AZOTE VOLATIL			
			TOTAL.	AMMONIACAL.	AMINÉ.	TRIMÉTHYLAMINÉ.
0.....	B	15,5	0,531	0,466	0,065	0,038
7.....	AB.	16,2	0,889	0,672	0,217	0,113
12.....	M	14,8	1,194	0,815	0,379	0,260

Expérience II. — Une seconde expérience, analogue à la précédente, fut exécutée sur un nouveau lot de merlans, pour chercher confirmation des résultats déjà obtenus.

Les caissettes contenant les poissons bien pourvus de glace furent gardées dans une armoire froide, à une température comprise entre $+ 0^{\circ}5$ et $+ 1^{\circ}5$ C.

Chaque poisson pesait en moyenne 60 grammes. La chair renfermait 80,8 p. 100 d'eau et 2,92 p. 100 d'azote total.

Les résultats trouvés sont réunis dans un tableau, où la proportion d'azote volatil est exprimée pour 100 d'azote total.

DURÉE.	ETAT.	AZOTE VOLATIL			
		TOTAL.	AMMONIACAL.	AMINÉ.	TRIMÉTHYLAMINÉ.
0.....	B	0,474	0,432	0,042	0,030
12.....	AB	1,066	"	"	"
15.....	M	1,102	0,795	0,307	0,300

Conclusions. — 1. Les conclusions générales qui ressortent de l'examen des nombres contenus dans les deux tableaux qui précèdent sont semblables à celles qui furent établie antérieurement pour du poisson gardé sans glace :

a. Il n'y a pas de relation définie entre l'état du poisson — ou la durée de conservation de celui-ci — et la teneur en azote non protéique, pour une chair relativement fraîche ou modérément altérée ;

b. La teneur en azote basique volatil s'accroît sensiblement au fur et à mesure que la durée de conservation augmente et que l'état du poisson devient de moins en moins satisfaisant. L'accroissement relatif est beaucoup plus important pour l'azote aminé que pour l'azote ammoniacal, chez l'espèce étudiée.

2. En ce qui concerne le merlan, le tableau II du mémoire I (p. 318, échantillons n^{os} 12 et 13) ne contient pas suffisamment de résultats pour permettre de délimiter avec précision les taux d'azote volatil correspondant à des états déterminés de la chair. Néanmoins, si l'on rapproche les nombres dudit tableau de ceux qui furent trouvés dans les deux expériences actuellement en cause, on constate que, pour celles-ci, le poisson modérément altéré (état M) présente une teneur en azote volatil comprise entre celle qui se rapporte à une très faible altération (état AB) et celle qui est relative au début de la corruption (état AC), dans le tableau II du mémoire I.

Cette remarque tend à montrer que le rapport existant entre le degré d'altération et le taux d'azote volatil total est le même pour le poisson mis en glace que pour celui qui est exposé à l'air, à la température ordinaire. Il s'ensuit qu'un nombre-indice de corruption établi dans ce dernier cas doit être également applicable au poisson conservé en glace.

3. Dans la première expérience sur la conservation en glace, l'altération apparaît un peu plus tôt que dans la seconde. Ce phénomène s'explique aisément par une différence entre les états initiaux respectifs des deux lots de poissons ; la différence est marquée par un écart entre les proportions d'azote volatil au début des expériences.

BIBLIOGRAPHIE.

- (1) BOURY (M.) et SCHVINTE (J.). — L'altération du poisson. *Revue des Travaux de l'Office des Pêches maritimes* 1935, 8, p. 282-334.
- (2) BEATTY (S. A.) and GIBBONS (N. E.). — An investigation into the main factors contributing to the spoilage of fresh fish. *Biological Board of Canada. Progress Reports of Atlantic Biol. Stat.*, 1935, n° 15, p. 4-9.
- (3) LUCKE (F.) et GEIDEL (W.). — Le dosage de l'azote basique volatil dans les poissons, critère de l'état de fraîcheur. *Zeits. f. Unters. Lebensm.*, 1935, 70, 441-458 ; *Chimie et Industrie*, 1936, 36, 815.