novembre 1975

Etude préliminaire de la maturation de l'anchois salé (*Engraulis encrasicholus*) et approche des problèmes liés à l'origine du poisson

par F. KABBAJ

Etude effectuée à l'Institut scientifique
et technique des Pêches maritimes - Nantes
du 7 avril 1975 au 19 novembre 1975.

Table des matières

	Pages
Introduction	1
I. Contexte des deux marchés de l'anchois celui de la matière première et celui de la salaison	2
I.1. Marché de la salaison	2
I.2. Marché de la matière première	2
II. Changements biochimiques et microbiologiques au cours d'une maturation classique	5
II.1. Présentation des conditions générales de la maturation	5
1. Matières premières	
2. Matériel	
3. Schéma de fabrication	
4. Modifications macroscopiques	
II.2. Différences et analogies avec d'autres produits carnés salés et fermentés	9
1. Avec les denrées à base de poisson	
2. Avec le saucisson sec	
II.3. Données bibliographiques et justification des voies d'études	10
1. Observations empiriques	
2. Différentes théories expliquent le problème	
3. Discussion et présentation du plan de travail	
II.4. Résultats	13
4.1- Etude biochimique	13
A - Matériel et méthodes	
B.- Résultats	
1. Taux d'humidité de sel dans la chair	
2. Evolution de la matière azotée	
3. pH	
4. Taux de matières grasses	
5. Analyse de la saumure	
4.2. Etude microbiologique	18
A.- Matériel et méthodes	
1. Choix du milieu de culture de base	
2. Concentration en chlorure de sodium et pH	
3. Schéma expérimental	
4. Température et durée d'incubation	
5. Isolement et étude des souches	

./.

INTRODUCTION.

Nous connaissons tous le filet d'anchois qui décore salades et pizzas et qui en rehausse agréablement le goût. Ce filet provient d'anchois salés et mûris. Les méthodes de salage peuvent être quelque peu différentes, mais le principe de base reste le même. Le poisson est salé à 25 - 30 %, été éviscéré, embarillé en couches alternées avec du sel, puis mis sous presse pendant 4 à 18 mois afin qu'il mûrisse. Cette maturation est nécessaire car elle confère au produit des qualités organoleptiques (un goût, une flaveur et un fumet) sans lesquelles le poisson n'est pas"anchoité".

La pratique du salage comme moyen de conservation de denrées périssables telles que le poisson remonte à des temps très anciens (Egypte ancienne et Grèce antique). Mais les hommes se sont vite rendu compte que si le sel empêchait l'altération du produit il lui conférait aussi des flaveurs particulières et plaisantes. Des pratiques se sont développées en particulier dans tout le Bassin Méditerranéen sous forme de produits divers (sauces, poissons salés et séchés, poissons salés fermentés, etc...).

Le procédé d'anchoitage est né dans ce contexte. La production et la consommation de l'anchois salé sont restées fort longtemps localisées à quelques pays ou régions tels que l'Italie, l'Espagne, l'Algérie ou le Sud de la France.

Ces dernières années elles ont connu, notamment en France, une vague croissante. Pour faire face à cette demande supplémentaire les pêcheurs vendéens et bretons se sont mis à capturer l'anchois jusqu'alors délaissé dans leurs régions. Mais celui-ci mûrit très lentement et la confrontation des saleurs avec ces problèmes nouveaux a révélé que le phénomène est très mal élucidé.

C'est pourquoi cette étude préliminaire aura comme but essentiel de situer le problème sous ses différents aspects. Ainsi la première partie du rapport présentera le contexte socio-économique du marché de l'anchois, la deuxième partie sera consacrée à l'exposé du travail de laboratoire concernant la maturation proprement dite et la troisième à la synthèse des données bibliographiques sur la biologie du poisson et des résultats obtenus au laboratoire afin de mieux cerner les problèmes posés par la variabilité de la matière première.

I.- Contexte des deux marchés de l'anchois celui de la matière première et celui de la salaison

I.1.- Marché de la salaison.

Depuis une quinzaine d'années s'est affirmé un marché potentiel de l'anchois au niveau de la consommation du produit fini et ce pour diverses raisons.

Le pourcentage d'étrangers d'origine méditerranéenne et le nombre de rapatriés d'Afrique du Nord ont augmenté dans de fortes proportions Ayant bien sûr gardé leurs habitudes alimentaires, ils sont consommateurs d'anchois salés.

Par ailleurs, l'élévation générale du niveau de vie en Europe et le mélange de populations se sont accompagnés d'un engouement certain pour les cuisines étrangères ou exotiques. On mange donc assez facilement pizzas, salades méditerranéennes, toasts ou sandwichs. Dans tous ces mets on ajoute volontiers quelques filets d'anchois.

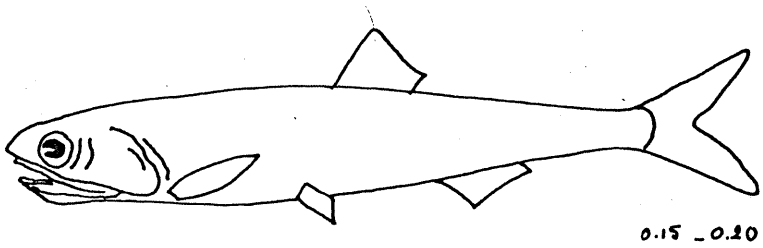
Les pêcheurs ont donc été encouragés par les saleurs qui importaien du poisson pour satisfaire la demande, à accroître leurs captures d'anchois.

I.2.- Le marché de la matière première.

Le développement du marché de l'anchois s'est produit alors que la crise de la pêche sardinière s'accentuait (apports en baisse, taille du poisson trop importante et bas prix). En Méditerranée la crise s'est trouvée plus ou moins résolue par un équilibre entre les captures traditionnelles de sardines et d'anchois ; mais en Vendée - Bretagne elle devait amener les pêcheurs à rechercher comme appoint l'anchois qui lors des temps prospères de la sardine était délaissé.

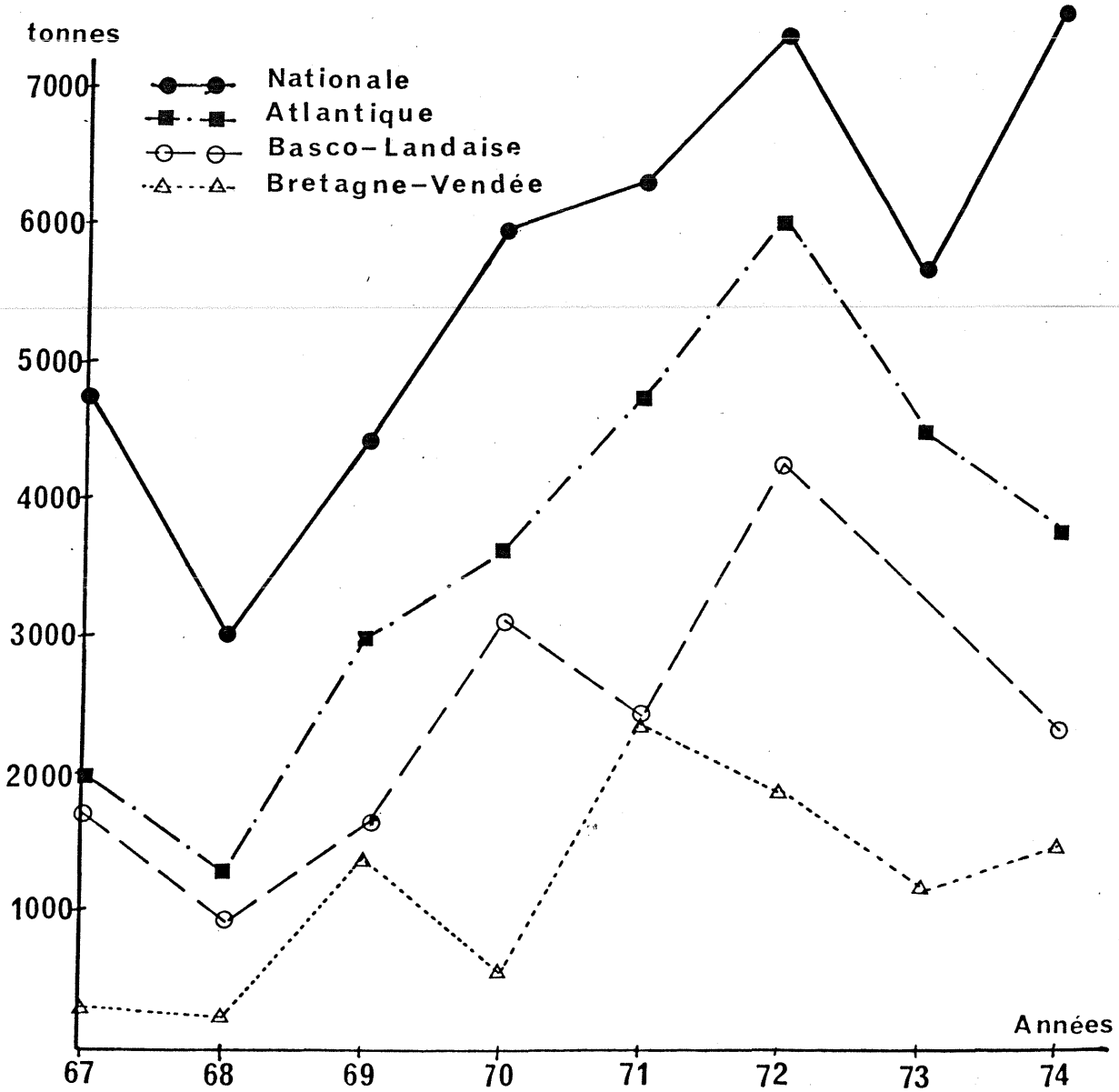
Plus récemment, c'est-à-dire depuis un an, la situation du marché de l'anchois s'est elle aussi détériorée. Comme la sardine, l'anchois est un poisson saisonnier qui doit satisfaire à des normes de taille (moule au dessus de 50 - 55 poissons au kilo) et qui n'a qu'un seul débouché industriel : le salage. Pendant l'été 1974 une crise a éclaté dans les ports de La Turballe et de Saint Gilles Croix de Vie. Des tonnes d'anchois ont été répandues sur la chaussée. Les pêcheurs ont subi l'effondrement des prix

./.



Engraulis encrasicholus: Anchois

fig I : Evolution des captures d'anchois



et le poisson trop petit a été refusé. De plus, les saleurs se sont déclarés fort mécontents de l'anchois vendéen qui ne mûrit qu'au bout de 15 mois et de ce fait les oblige à une immobilisation de capitaux difficile à supporter (les conditions de crédits étaient désastreuses à cause du contexte économique général).

Au début de la campagne 1975 le sujet était encore d'actualité, la crise ayant atteint le port de Saint Jean de Luz. Les saleurs refusaient d'acheter un poisson d'excellente qualité parce que leurs stocks de l'année précédente n'avaient pas été écoulés et que le crédit était cher. Il a fallu l'intervention des syndicats, des banques et du Crédit maritime pour que les pêcheurs puissent vendre leur pêche. Des quotas furent par ailleurs imposés : 8 tonnes par jour et par bateau en début de saison et 4 tonnes par jour et par bateau en fin de saison.

Les entreprises de salaison importante susceptibles d'avoir une influence directe sur le marché sont peu nombreuses
et les fluctuations de leur production sont liées aux captures de poisson au niveau national. Comme nous le montre la figure I, la campagne 1974 a été bonne avec 7 586 tonnes. Les importations ont dépassé 6 000 tonnes pendant la même période.

Dans ce contexte, plus grave encore semble avoir été l'impact sur la profession d'une mévente des produits finis. Cette mévente a été imputée pour une large part à la mise en application d'un nouveau texte sur les conditions de vente des semi-conserves (arrêté du 4.10.73 règlementant les conditions d'hygiène applicables dans les lieux de vente au détail des produits de la mer).

Les professionnels ont vu dans l'obligation d'exposer à la vente leurs produits en meubles réfrigérés (température inférieure à + 15°) une cause de perturbation des habitudes des ménagères et l'explication principale de la mévente.

La diminution des ventes viendrait aussi d'une confusion possible des consommateurs entre la date de fabrication et la date limite de vente. Les saleurs ont donc des difficultés à écouler leurs stocks.

La crise de l'anchois est donc grave et des solutions devront être trouvées aux problèmes posés.

./.

Ainsi, une meilleure connaissance du phénomène de maturation améliorerait les conditions technologiques du salage. Les saleurs souhaiteraient pouvoir utiliser du poisson congelé afin de mieux organiser la rotation de leurs équipes de travail. De plus, une accélération de la maturation abaisserait le coût de fabrication et de stockage, le produit pouvant être injecté plus rapidement dans les circuits de commercialisation.

Une étude approfondie des conditions d'entreposage et de la possibilité d'ajouter éventuellement des stabilisants autorisés au produit serait aussi envisageable.

Au niveau commercial, l'information publicitaire du public augmenterait certainement la vente des crèmes et beurres préparés à partir de petits anchois impropres à la mise en filet et celle des autres formes de produits finis. Aussi, en apportant des solutions aux problèmes des saleurs on permettrait aux pêcheurs de conserver et d'élargir leur marché.

II.- Changements biochimiques et microbiologiques au cours d'une maturation classique.

Le travail entrepris dans les laboratoires de l'ISTPM était donc motivé par l'actualité et l'importance du problème. Rapidement il s'est avéré que le sujet avait donné lieu à peu d'investigations antérieures et que le salage se faisait avant tout empiriquement, les méthodes étant transmises de génération en génération.

Une enquête auprès des saleurs de Saint Jean de Luz et l'essai de MM. R. Dieuzeide et M. Novella sur "la technique des salaisons de poissons" nous ont permis de rassembler les données empiriques de base indispensables pour comparer notre produit aux produits carnés salés et fermentés mieux connus. Cette comparaison facilitera le choix des voies de recherche.

II.1.- Présentation des conditions générales de la maturation.

1.- Matières premières.

a) Le Poisson.

La seule espèce (1) utilisée dans la fabrication de l'anchois salé est Engraulis encrasicholus L. C'est un poisson pélagique grégaire à migrations restreintes. Son grégarisme s'accentue surtout lors de la reproduction.

L'anchois, poisson au corps allongé à section transversale arrondie a le dos bleu et le ventre argenté. Il vit en général 3 ans et peut atteindre une taille maximale de 20 cm. Il mesure en moyenne 10 cm à un an, 15 cm à deux ans et 18 cm à trois ans (D. Guérault et J.L. Avrilla).

Comme beaucoup de poissons, l'anchois a une biologie étroitement liée à la physiologie de sa reproduction. Il se nourrit essentiellement de zooplancton, oeufs de poissons et copépodes. De mai à octobre, quand le plancton est le plus abondant l'anchois a une croissance importante accompagné d'une accumulation de réservés graisseuses. La teneur en matières grasses du poisson est maximale en automne (Fraga, 1955 ; tableau 3). Avec les premiers froids le poisson disparait dans les eaux profondes. Ses réserves graisseuses lui permettront une hibernation dans des conditions nutritionnelles défavorables et l'élaboration des produits sexuels.

(1) Depuis un certain nombre d'années et du fait des importations d'autres espèces d'anchois ont été travaillées en France (E. anchoita provenant d'Argentine par exemple).

./.

Dès le premier réchauffement printanier le poisson sexuellement mûr se rapproche des côtes et de la surface, en bancs, pour frayer. Quand la température dépasse le minimum de 14,5°C il commence à pondre (S. Arbault et N. Lacroix).

La durée et la période de fraie sont variables selon les lieux géographiques et coïncident à peu près avec la saison de pêche sauf en Vendée et Bretagne où l'on capture l'anchois bien après la ponte. Sur la côte atlantique il pond de mai à juillet, la ponte du printemps étant courte et bien plus abondante que celle de l'été (S. Arbault et N. Lacroix). En Méditerranée la période de fraie s'échelonne d'avril à août. Dans tous les cas les conditions de températures sont primordiales pour le développement des oeufs et la croissance des larves.

L'anchois est donc capturé quand il se rassemble en banc. En Méditerranée, on le pêche au lamparo tandis qu'en Atlantique on utilise la senne coulissante. A bord, il est entreposé après un salage léger (3 - 5 %) dans le vivier destiné à l'appât vivant pour la pêche au thon.

Pour le débarquement du poisson, notamment à Saint Jean de Luz, on n'utilise plus les caissettes en bois qui demandaient une manutention longue et fastidieuse, mais des containers en fibres moulées, d'une capacité de 750 à 850 kg. Le poisson est transvasé des viviers aux cuves à l'aide de grandes épuisettes (photo 1). Les containers remplis sont débarqués au moyen d'une grue et une fois sur le quai ils sont pesés puis expédiés vers les usines de salaisons (photo 2).

b) Le sel.

On utilise généralement du gros sel pour le salage des poissons, un sel trop fin ayant un effet néfaste sur l'évolution des tissus. Pour les petits poissons tels que l'anchois, le sel utilisé est le sel n° 2 (gros sel passé dans un broyeur à cylindres lisses écartés de 2 mm (R.D. et M.N.).

L'influence de la composition du sel sur l'anchoitage a été peu étudiée, mais les saleurs pensent en général que le sel doit être le plus pur possible et exempt de souillures. En France et notamment dans le Sud, on utilise surtout le sel en provenance des Salins du Midi.

./.

Débarquement des captures d'anchois
dans le port de Saint Jean de Luz.

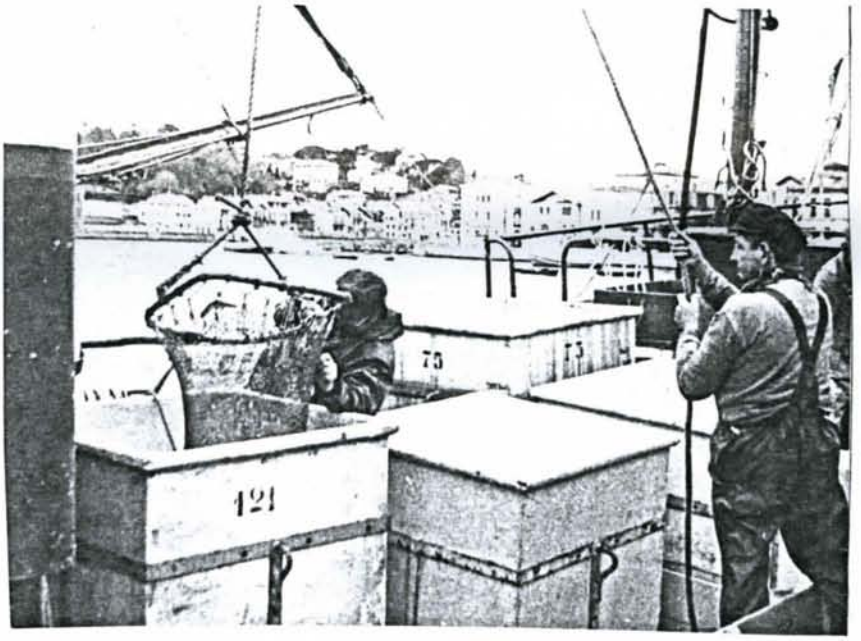


Photo 1. Transfert des anchois
du vivier dans les containers.

Photo 2. Mise à terre des containers.

Photo 4. Aspect à l'ouverture.

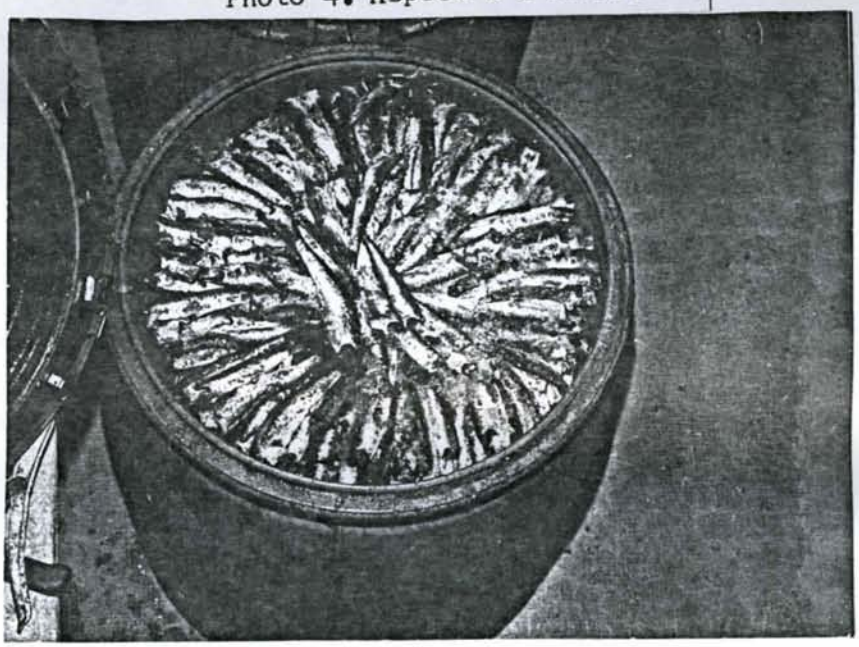


Photo 3. Fûts plastiques contenant l'anchois salé . Entreposage et pressage.

Composition du sel des Salins du Midi.

Chlorure de sodium	96,52
Chlorure de magnésium	0,04
Chlorure de calcium	0
Chlorure de potassium	0
Sulfate de chaux	1,11
Sulfate de magnésie	0
Insoluble	0,17
Humidité	2,10

2.- Le matériel.

Le salage final se fait dans des fûts de volume variable. Autrefois on utilisait des barils siciliens de 40-50 l ou des bordelaises de 225 l en bois de chêne, hêtre ou chataignier. Actuellement ces récipients sont remplacés par des fûts en matière plastique d'une capacité de 150 ou 250 kg, d'une utilisation et d'un entretien bien plus commodes.

Les disques qui permettent le pressage du poisson sont en bois de platane, d'un diamètre légèrement inférieur à celui de l'ouverture des fûts. La pression est exercée au moyen de gros parpaings.

3.- Schéma de fabrication.

Le schéma suivant présente la technique de salage en usage dans les ateliers de Saint Jean de Luz où l'on pratique essentiellement le salage à sec. Mais il n'est pas de règle générale, car il existe des modes de salage en saumure saturée ou même des modes mixtes.

./.

Lieu	Opérations	durée	Effets - But
à bord	Présalage à 3 - 5 %	quelques heures	Préservation du poisson
à l'usine	Salage 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	

Toutes ces opérations se font à la température ambiante, mais pour la maturation ce facteur est très important car il en détermine la durée. Généralement elle se fait entre 12 et 20°C.

4.- Modifications macroscopiques.

Lors de l'anchoitage deux types de phénomènes ont lieu, l'un rapide associé à l'action physico-chimique du salage et du pressage, l'autre très lent lié aux transformations biochimiques de la chair.

Le premier entraîne une forte perte d'humidité par élimination d'un partie du liquide cellulaire et provoque en outre l'exsudation des graisses. La chair devient dure et sèche et la raideur du poisson s'accentue. A la dégustation, on a une forte impression de papier mâché et on ne perçoit que le goût de sel et de poisson cru.

Le deuxième phénomène se manifeste très lentement et entraîne un rosissement de la chair qui s'amorce au niveau de la colonne vertébrale et de la cavité viscérale ; le poisson se pliant plus facilement. Le goût et l'arôme caractéristiques apparaissent avant que le poisson ne soit complètement mûr, celui-ci devient rose-brun, la chair est très tendre, les myotomes se séparent facilement, le poisson se rompt aisément et le filet se détache bien de la colonne vertébrale. A la dégustation la chair est moelleuse ; le goût salé est beaucoup moins accentué, l'arôme est très fort et on garde une impression de rondeur, le goût du "cru" ayant complètement disparu.

II.2.- Différences et analogies avec d'autres produits carnés salés et fermentés.

1.- Avec les denrées à base de poisson.

Dans les pays nordiques le salage du poisson est très répandu, mais les techniques mises en oeuvre diffèrent légèrement. Si on laisse de côté le cas de la morue et des autres grands poissons, les espèces utilisées constituées en majorité de harengs et de sprats, donc plus gras que l'anchois, sont salés à des degrés divers et entreposées à des températures variant de 0 à 10°C. On leur adjoint éventuellement des épices, des aromates ou du sucre (Alm, Voskrensky).

Les durées d'entreposage sont variables un certain état de maturation étant requis en fin de salage. Les produits doivent répondre à des critères organoleptiques que l'on connait mal, c'est pourquoi l'interprêtation des travaux des chercheurs nordiques doit être faite avec prudence.

En Asie du Sud Est le salage du poisson tient une place essentielle dans l'économie des pays car il entre dans la fabrication des sauces du type Nuoc-mam ou des pâtes de poisson qui font partie de l'alimentation de base des populations locales.

./.

Le poisson utilisé, généralement un mélange de petits clupéidés, est salé à 25 - 30 % environ. La durée d'entreposage qui s'effectue à des températures élevées (36° à 44°C) varie avec le degré de liquéfaction désiré qui est elle-même fonction de la taille du poisson (rapport F.A.O., Viallard - Goudou).

Par ailleurs il est intéressant de souligner que dans toutes ces pratiques le poisson est plus ou moins fortement pressé et reste toujours immergé dans la saumure.

2.- Avec le saucisson sec.

Le saucisson sec se fabrique à partir de viande de porc ou de boeuf et de gras, salés, broyés plus ou moins finement et malaxés. La pâte est introduite dans un boyau perméable ; le saucisson subit ensuite un étuvage de 1 à 3 jours à 22° - 25°C et un séchage à 10 - 15°C. La durée de dessication-maturation peut aller de 3 semaines à 3 mois (J. Rozier).

Il est intéressant d'introduire ce type de produit dans la présente étude car c'est l'un des seuls produits carnés fermentés qui a donné lieu à un grand nombre d'investigations et pour lequel on a démontré l'importance des microorganismes. Cesari parle même d'un "fromage de viande". La composition du saucisson sec est très différente de celle de l'anchois salé mais le contexte hydrique est assez semblable, l'effet du séchage pouvant être comparé à l'action du sel. En effet le premier contient 5 % de sel et 48 % de lipides (J. Rozier et P. Durand) alors que dans la constitution du second entrent 20 % de sel et 3 % de lipides.

II.3.- Données bibliographiques et justification des voies d'études.

1.- Observations empiriques.

Les poissons pêchés en début de saison murissent plus vite que les autres. Dieuzède et Novella communiquent pour la Méditerranée des chiffres de 3 mois en début de saison et 6 mois pour les dernières captures. On observe le même phénomène sur la côte basque.

La fraîcheur du poisson, sa composition, son état nutritionnel influerait sur la durée de maturation. Pour les harengs et les sprats salés on recherche un taux élevé de matières grasses (Voskrensky), tandis que sur la côte basque on pense qu'un anchois tros gras mûrit mal.

./.

Tous les saleurs sont unanimes pour affirmer qu'une bonne pression doit être exercée sur le poisson et que celui-ci doit toujours être recouvert de saumure, ainsi des conditions d'anaérobiose partielle sont recherchées.

La température associée à la durée de maturation est un facteur fondamental. En effet une température élevée accélère le phénomène mais peut aussi provoquer une liquéfaction partielle de la chair, si elle est appliquée trop longtemps.

La composition du sel et du poisson de même que leur microflore auraient aussi une influence mais les avis ne sont pas nets à ce sujet.

2.- Différentes théories expliquent le phénomène.

Le problème, quand on aborde l'explication du phénomène maturation, a toujours été de savoir si microorganismes y participent activement.

Pour les produits de type Nuoc-mam les auteurs (Vialard - Goudou, L. Boez et Guillermim, Saïsithi) s'accordent pour attribuer une partie de l'arôme et des qualités du produit fini à l'activité microbienne qui s'y développe. Mais les avis divergent en ce qui concerne les poissons salés du type français ou scandinave.

Cheftel rapporte les travaux de Lepierre et Mercier Marques qui ont voulu prouver que des microorganismes ne jouaient aucun rôle dans le produit de type méditerranéen en travaillant dans des conditions stériles de maturation. Dans ce but ils ont uniquement stérilisé le sel et les récipients. Les résultats entre les deux lots furent semblables ; le poisson pouvant apporter des microorganismes.

Par ailleurs certains auteurs scandinaves (Alm, Christensen, Aske SIK report) ont étudié le problème en s'intéressant plus spécialement aux enzymes protéolytiques des viscères et du muscle ou bien en essayant de prouve que les microorganismes intervenaient peu. Les Suédois ont stérilisé le poisso par irradiation puis ont réinoculés une partie des poissons avec des microbes venant d'anchois normaux. Ils constatent que l'activité protéolytique dans les deux lots est semblable mais qu'il existe par contre des différences notables au niveau du produit, imputables selon eux à la dénaturation des protéines par le traitement stérilisant. Cependant il faut être très prudent quant à l'exploitation de leurs résultats, le terme "maturation" n'impliquant pas forcément les mêmes transformations du produit. Ils entendent peut-être

./.

par maturation l'acquisition d'une certaine tendreté de la chair comparable à celle que l'on recherche pour les viandes.

3.- Discussion et présentation du plan de travail.

En fait beaucoup d'auteurs ont adopté la théorie mixte qui admet l'action combinée des enzymes et des microorganismes. Ivanova pense que la protéolyse libère des petites molécules favorisant le développement des bactéries. De même Saïsithi, Voskrensky, Viallard Gaudon, Periera Galvao et Aresta Branco, Guillermin et L. Boez, rapport FAO, estiment que seule une activité microbienne peut donner aux produits salés fermentés leur arôme et leurs qualités particulières. D'autres faits nous ont amenés à rechercher les résultats d'une activité microbienne.

Les adeptes de la théorie aseptique pensent que l'arôme serait engendré par les acides aminés libres, mais, si ces derniers participent seuls ou en association avec des nucléotides à la saveur générale du produit, leur rôle aromatisant laisse encore des doutes (Jones). De même Saïsithi a montré que les produits de la réaction de Strecker à partir de 14 acides aminés ne sont pas responsables de l'arôme de la sauce de poisson japonaise et que le rôle des bactéries dans la formation des produits aromatisants est primordial.

Le sel n'est pas un antiseptique et une fermentation spontanée n'est pas un phénomène rare. Jusqu'à ces dernières années le saucisson sec pour lequel l'influence des microorganismes a été démontrée, n'était pas ensemencé.

Ce travail est une étude préliminaire qui a pour but essentiel d'apporter une meilleure connaissance du produit et de son évolution afin de mieux orienter les voies de recherches à venir.

Les auteurs qui se sont attachés à l'étude de l'anchois type français ont tenté de prouver que les bactéries n'intervenaient pas sans rechercher une activité microbienne. C'est pourquoi on a essayé de voir si des microorganismes étaient présents, d'établir leur courbe de croissance et de regrouper les souches repiquées selon des critères physiologiques liés à la maturation. Sur le plan biochimique on s'est intéressé aux constituants les plus importants c'est-à-dire l'eau, le sel, les lipides et les matières azotées.

./.

II.4.- Résultats.

4.1.- Etude biochimique.

A. Matériel et méthodes.

Les analyses ont été faites à partir d'anchois prélevés dans deux fûts (A et B) préparés à Saint Jean de Luz le 15 mai 1975 par les soins de la Coopérative maritime ITSASOKOA. Ils ont été entreposés dans une cave de l'ISTPM à une température variant entre 18°5 et 21°5 (photos 3 et 4).

L'anchois utilisé était d'excellente qualité d'un moule moyen de 44 au kilo. En fait, le lot de poisson n'était pas homogène car à côté de poissons de 2 et 3 ans on trouvait des individus d'un an, petits et légèrement transparents.

On a exercé une forte pression (80 kg) pendant les 15 premiers jours, mais dès que la saumure a été formée on n'a gardé qu'un poids de 20 kg pendant toute la durée de la maturation (19 semaines).

Les prises d'essai étaient faites à intervalles réguliers de 15 jours. La couche superficielle était toujours dégagée et seul le poisson intact était prélevé. La saumure était ensuite homogénéisée et prélevée à son tour.

Afin de limiter au maximum les conséquences de variations possible de composition d'un individu à l'autre, les échantillons étaient assez importants, de 500 à 1 000 g de poisson et 200 à 300 ml de saumure.

La saumure était filtrée sur filtre ordinaire (Durieux n° 120) et le poisson essuyé rapidement afin d'enlever les gouttes de saumure et les cristaux de sel adhérents. Ils étaient ensuite broyés jusqu'à obtention d'une pâte homogène, dont on pesait immédiatement 40 g auxquels on ajoutait 100 cc d'eau distillée et 50 cc d'acide trichloracétique à 20 %. Le tout était broyé et homogénéisé puis filtré sur filtre papier (Durieux n° 120). Le défécat, la saumure et la pâte de poisson étaient entreposés à 0° - + 4°C entre chaque analyse.

Les analyses chimiques effectuées étaient les suivantes :

. sur le poisson pour tous les prélèvements :

- dosage de l'eau
- dosage des chlorures
- dosage de l'azote total.

./.

- sur le défécat pour tous les prélèvements :
  - dosage de l'azote non protéïque
  - dosage de l'azote aminé
- sur le défécat une fois sur deux :
  - dosage de l'azote volatil total
  - dosage des amines tertiaires volatiles
- sur la saumure filtrée :
  - dosage de l'azote total (pour tous les prélèvements)
  - dosage des chlorures (une fois sur deux)
  - dosage de l'azote volatil (une fois sur deux)
  - dosage des amines tertiaires volatiles (une fois sur deu

On a ajouté à ces analyses le dosage des graisses de la chair du poisson en début et en fin de maturation et la mesure du pH de la chair et de la saumure.

Toutes les méthodes d'analyse seront exposées en annexe.

B. Résultats.

1.- Taux d'humidité de sel dans la chair.

Lors du salage deux courants de matière en sens inverse se forment l'un d'eau et de produits dissous du poisson vers l'extérieur et l'autre de sel, des cristaux de sel vers les tissus. Au début de la diffusion d'eau est beaucoup plus rapide que la pénétration du sel et s'arrête beaucoup plus tôt (Voskensky). A des salages à fortes concentrations tel que celui pratiqué sur l'anchois, les protéïnes du muscle se contractent, la trame musculaire devient plus dense et la chair plus dure (Voskensky, F.R. Del Valle et J.R. Nickerson). En effet les ions Cl^- et Na^+ très "avides" d'eau se solvatent avec l'eau d'hydratation des protéïnes qui coagulent (F.R. Del Valle et J.R. Nickerson), ainsi l'eau liée se transforme en eau libre sous forme d'une solution saline concentrée.

Ces phénomènes sont très rapides avec l'anchois car le poisson est petit. La concentration en sel des tissus attint vite un palier (24 H) et s'y maintient tout au long de la maturation (fig. 2.). L'équilibre est atteint quand tout mouvement cesse et que la concentration en sel du poisson est égale à celle de la saumure (V et F.R. V. et J.R. N). Ce fait se retrouve dans nos essais, car au troisième prélèvement la concentration en chlorure de sodium des tissus et de la saumure ont été respectivement 19,5 % et 19,8 % pour B et 19,1 % et 18,8 % pour A. Les concentrations doivent être très voisines de la concentration maximale pour le produit dans ces conditions d'expérience,

./.

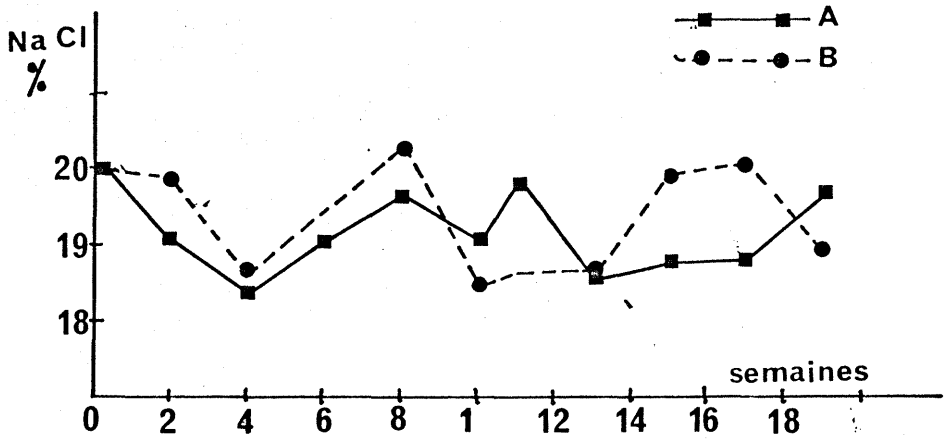


fig 2: Taux de sel

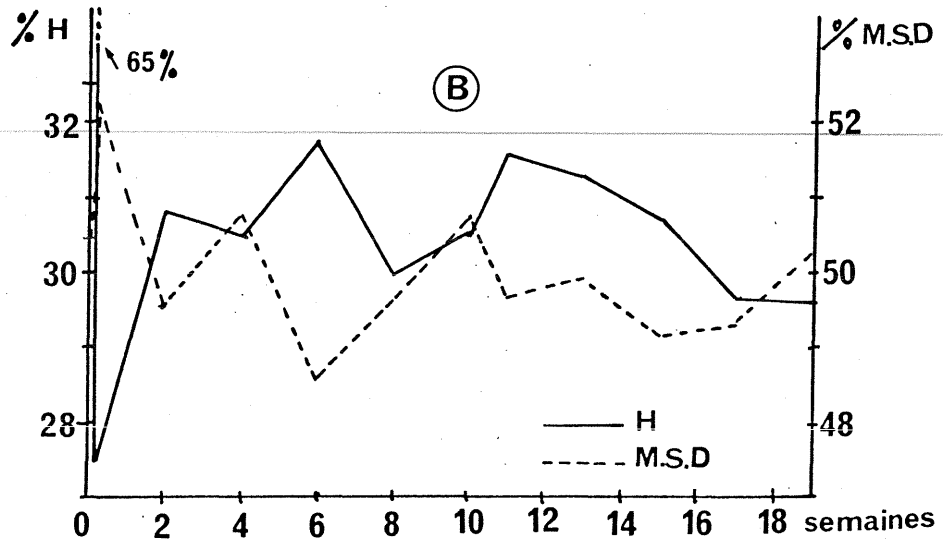
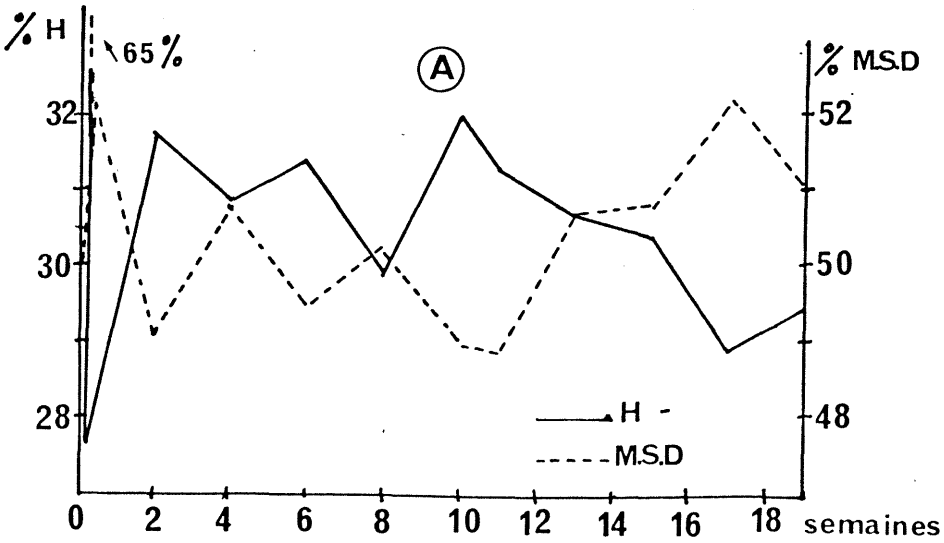


fig 3: Taux d'humidité et de matiére séche dessalée



car des cristaux de sel en excès étaient toujours présents.

Si l'on observe les graphes donnant le taux d'humidité et celui de la matière sèche dessalée (M.S.D.) au cours de la maturation (fig. 3) on constate que lorsque le taux d'humidité diminue celui de M.S.D. augmente et que celui du sel reste constant ; donc tout échange de liquide est un mouvement de saumure.

La brusque diminution d'humidité au départ résulte du salage et de la forte pression exercée, entraînant l'exsudation d'une partie de la saumure présente dans le tissu musculaire, la remontée qui suit pourrait venir de l'arrêt du pressage pendant le transport des fûts et de la diminution de la charge appliquée pendant l'entreposage à Nantes. En effet, F.R. Del Valle et J.R. Nickerson ont montré que le volume et le poids d'eau des tissus rapportés à la M.S.D. sont directement proportionnels.

La variabilité des résultats d'un prélèvement à l'autre se retrouve pour les autres tests mais sera moins marquée. Dans tous les cas l'hétérogénéité des poissons et des couches dans les tonneaux joue un rôle. Mais là, la variabilité doit être aggravée par les mouvements de saumure du poisson vers l'extérieur plus ou moins liée à la pression exercée.

2.- Evolution de la matière azotée.

Deux tests ont été utilisés pour suivre la protéolyse au cours de la maturation. On a dosé : l'azote non protéïque (N.P.N.) par la méthode Kjeldahl et l'azote aminé (N.a.) par la méthode de Folin-Ciocalteu et par la méthode de Sörensen. La dernière moins précise aura cependant permis la conversion des résultats exprimés en mg de Tyrosine en mg d'azote afin de pouvoir ramener cette valeur, comme les autres, à la quantité d'azote total.

Par ailleurs toutes les valeurs ont été calculées par rapport à la matière humide (M.H.) et par rapport à la matière sèche dessalée (M.S.D.) (fig. 4 et 5).

Si le taux d'azote total ne varie pas, ceux de l'azote non protéïq et de l'azote aminé augmentent dans de fortes proportions au fur et à mesure de la maturation.

Le départ des deux courbes peut être expliqué de la façon suivante

- la forte teneur, juste après le débarquement du poisson, en N.P. et la teneur relativement faible en acides aminés proviendrait d'un début

./.

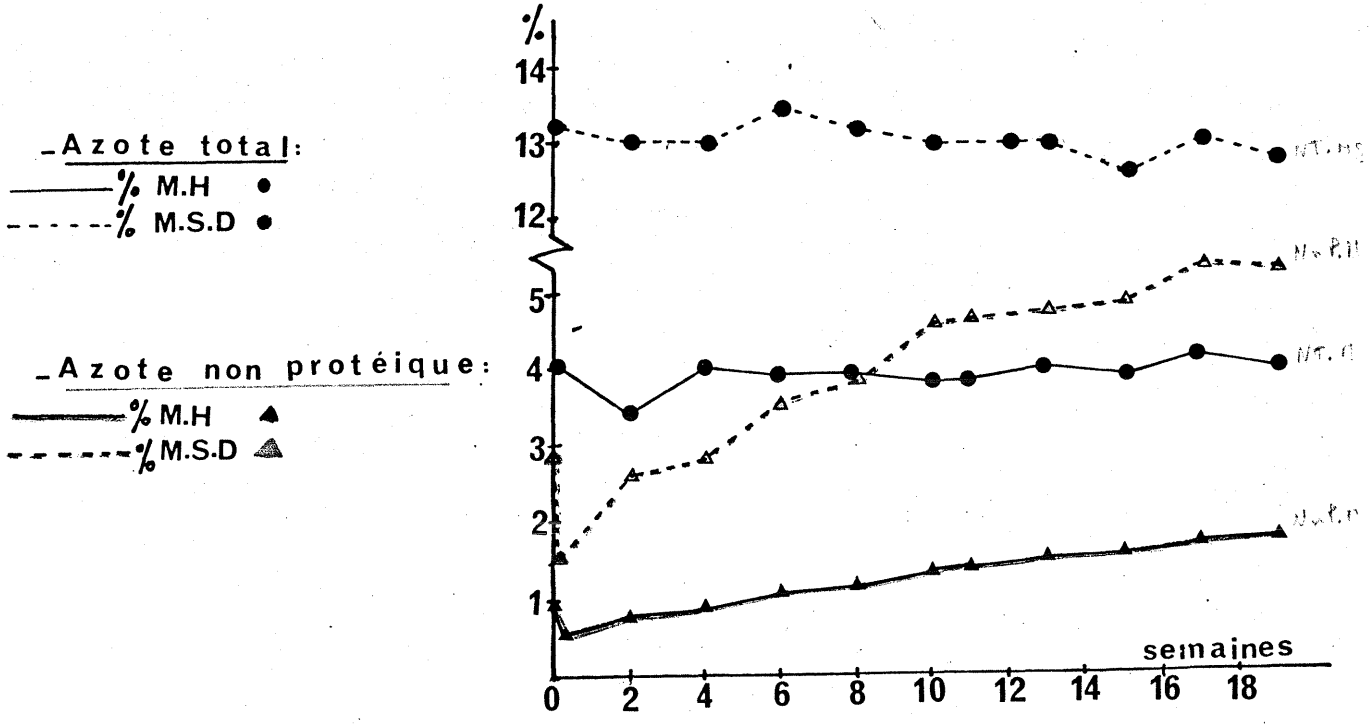
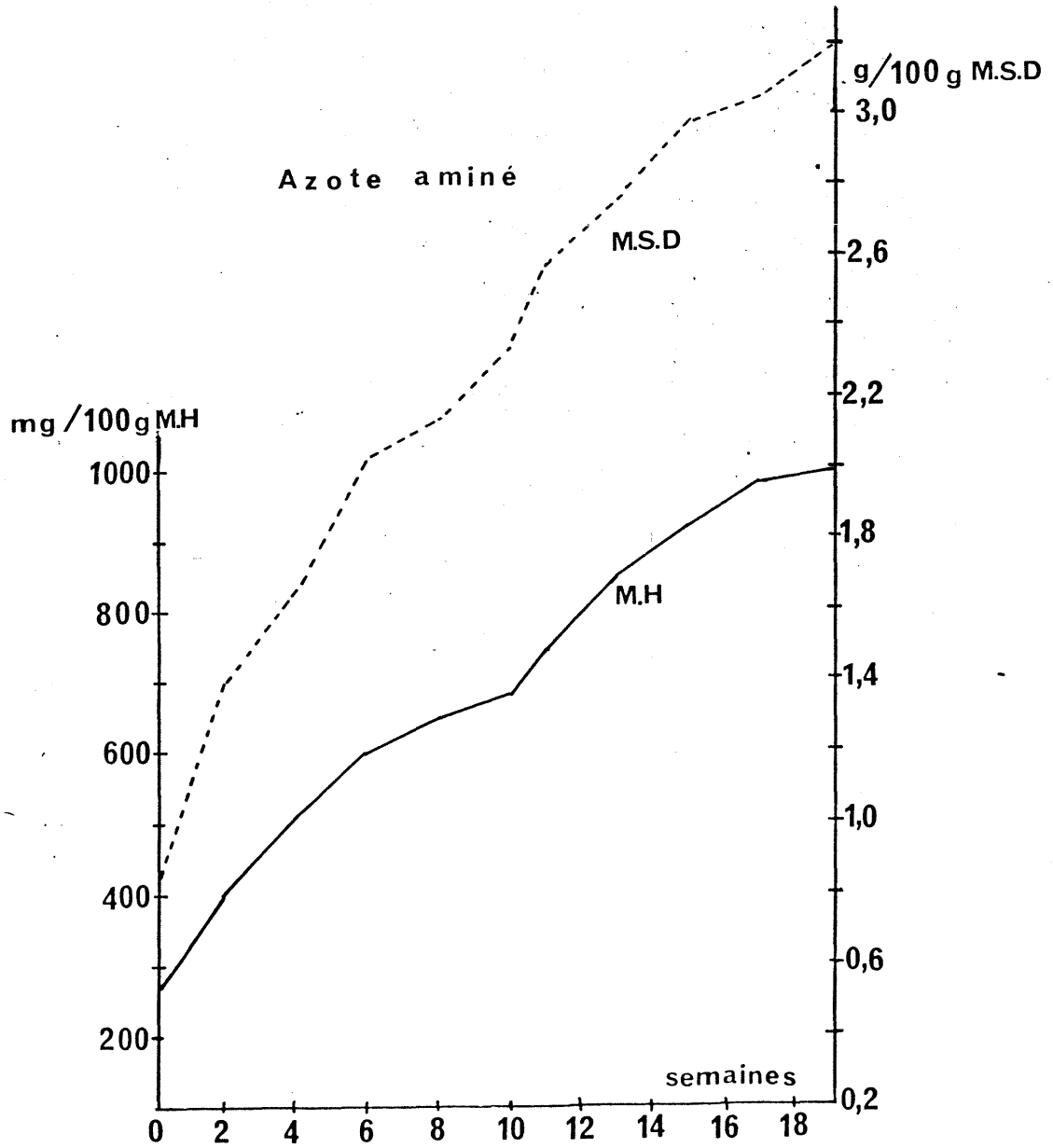


fig4; Fût A: Evolution de la matiére azotée



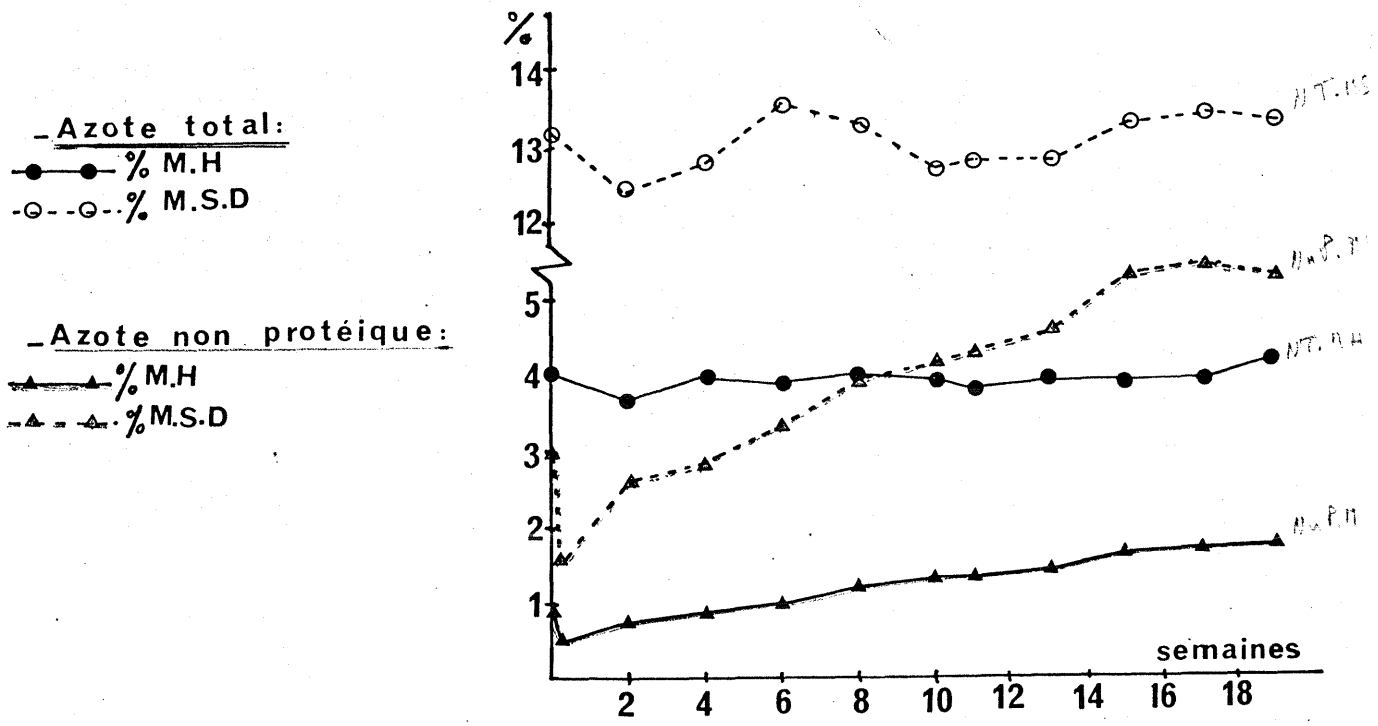
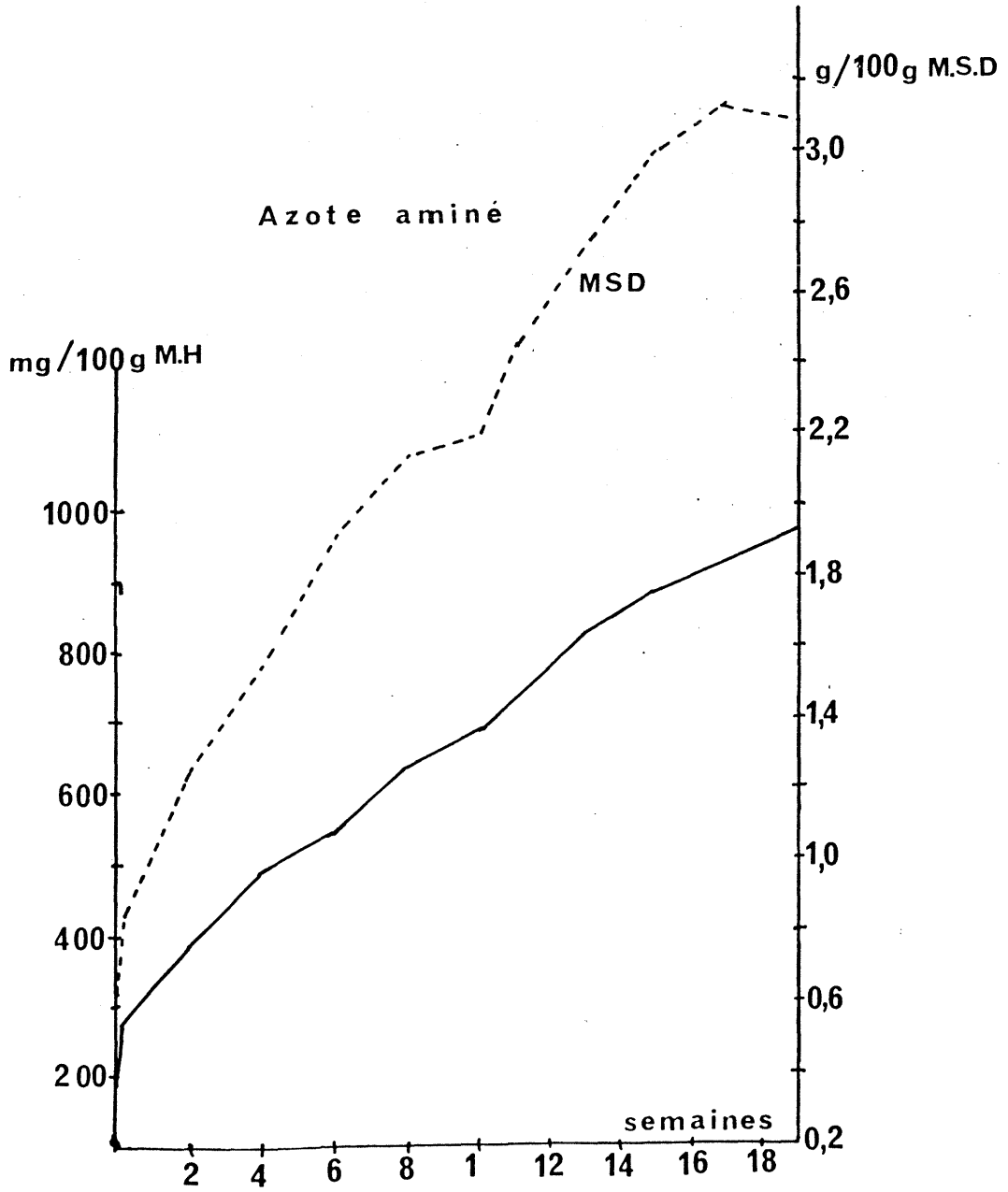


fig 5 ; Fût B: Evolution de la matiére azotée



de protéolyse avec formation de peptides plutôt que d'acides aminés.

- la pression exercée sur le poisson après 24 heures aura entraîné une partie de la saumure interne des tissus avec les produits qui y étaient solubilisés notamment les peptides, d'où la brusque diminution du N.P.N.

Toutefois on remarque que la protéolyse est fortement freinée par le salage, qu'elle est importante en début de maturation et qu'ensuite elle suit une évolution presque linéaire. En effet, Voskensky rapporte que si le taux de sel dépasse 15 % l'action des cathepsines s'effondre et que les enzymes du tractus digestif ont une activité qui décroît de 30 % moins vite que celle des cathepsines. Alm constate pour sa part que l'extractibilité de ces dernières est optimale à une concentration de chlorure de sodium 2 M (10°7 B) (dans l'anchois la saumure est à 25°B) mais que l'activité résiduelle n'est que de 10 %.

Le manque de régularité des courbes s'explique bien sûr par l'hétérogénéité de la matière première mais aussi par une augmentation de la température de trois degrés pendant les mois d'été suivie d'une diminution après le 15 août. Néanmoins, il ne faudrait pas en exagérer les effets car le système a une certaine inertie thermique, les fûts étant de taille importante, en matière plastique recouverts d'un disque épais en bois de chêne.

Si on observe les courbes de N.P.N./N.T. et Na/N.T. (fig. 6 et 7) on remarque que la quantité de peptides formés croît plus vite que celle d'acides aminés, donc les enzymes seraient plus actives sur les protéines et les polypeptides. Ce fait expliquerait d'ailleurs le ramolissement de la chair sans liquéfaction, lors de la maturation. Ainsi le "treillis" de protéines contractées provoqué par le salage serait plus lâche et permettrait l'exsudation de la saumure qui y était emprisonnée, d'où une légère diminution du taux d'humidité en fin de maturation (fig. 3).

Azote volatil.

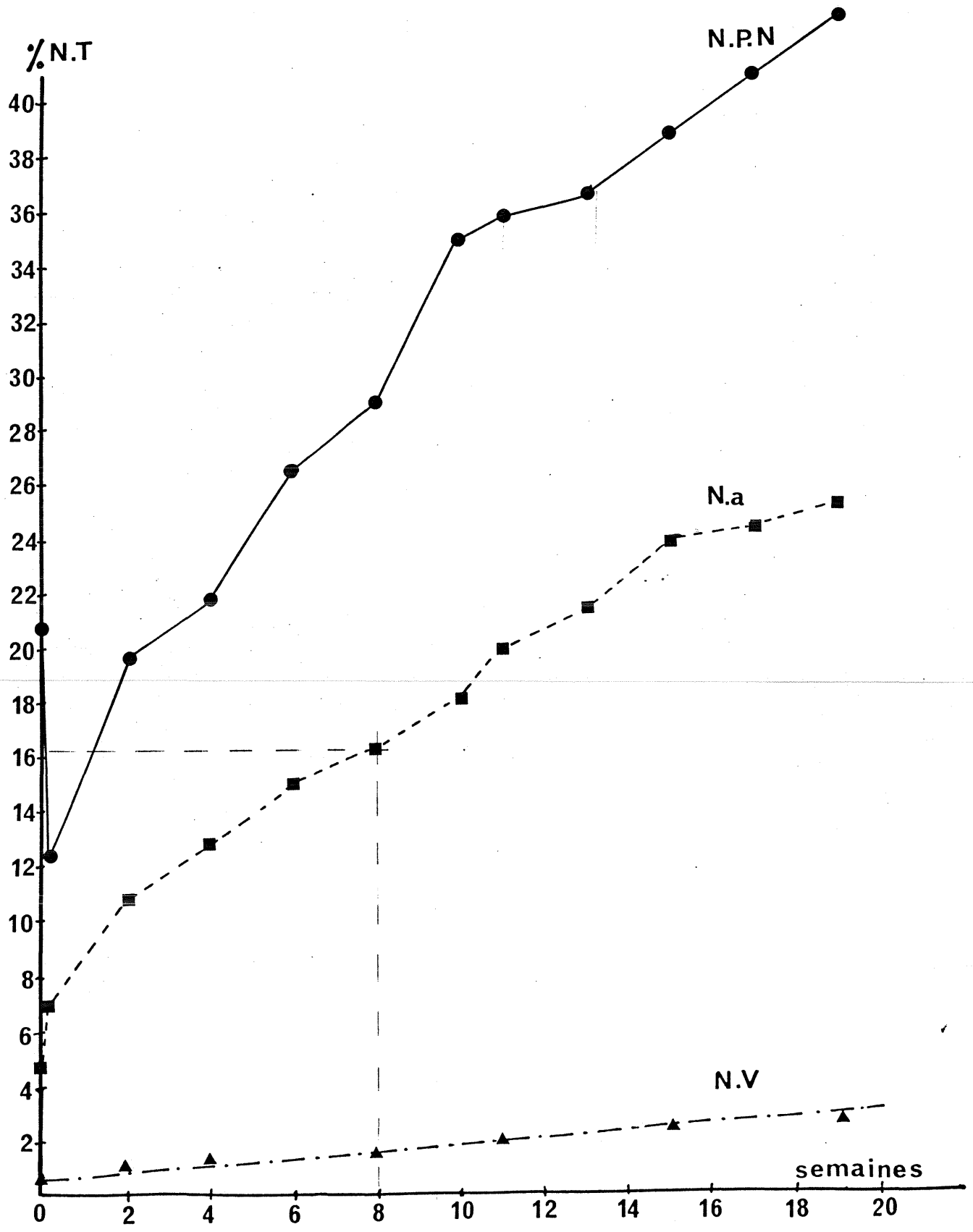
La quantité d'azote volatil dosé par la méthode de microdiffusion de Conway augmente linéairement avec le temps (fig. 8) mais reste peu importante.

Cet azote serait susceptible de provenir soit d'une décarboxylation soit d'une désamination d'acides aminés par des microorganismes (Viallard - Goudou) avec formation dans le premier cas d'amine et dans le second d'ammoniaque.

./.

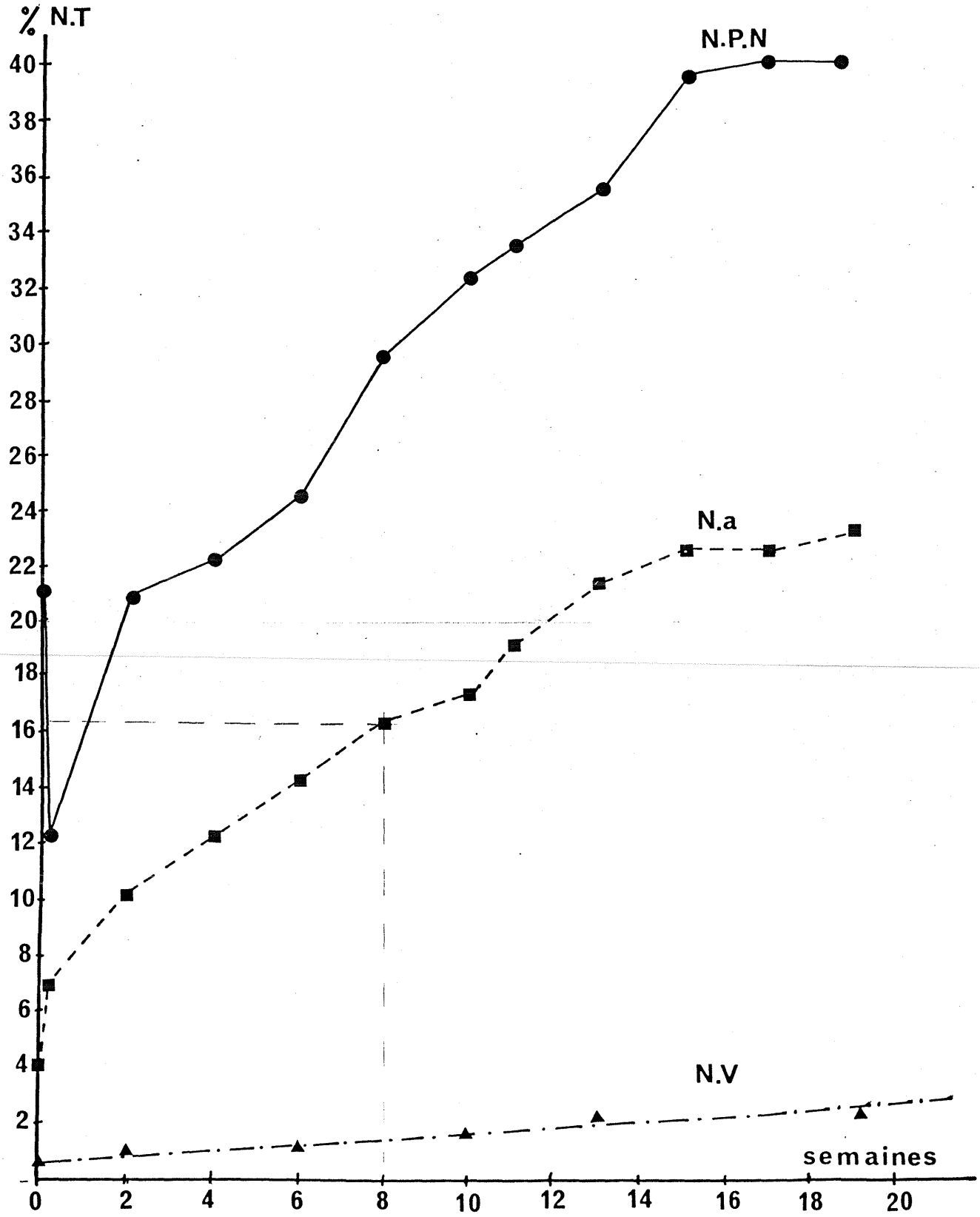
Fût A

fig 6 : Taux d'azote non protéique, aminé et volatil rapportés à l'azote total



Fût B

fig 7 : Taux d'azote non protéique, aminé et volatil rapportés à l'azote total



La proportion d'amines tertiaires surtout représentée dans le cas du poisson par la triméthylamine reste assez faible. Dans le poisson frais non salé, celle-ci, produite par des microorganismes putréfiants, est un indice d'altération (F. SOUDAN). Le sel bloque la putréfaction en détruisa les agents microbiens et en inactivant leurs enzymes. Par ailleurs pour les sauces de poissons asiatiques un rapport azote ammoniacal sur azote aminé faible est un indice de bonne qualité car l'ammoniaque engendré en trop grande quantité serait l'indice d'une contamination par des bactéries de putréfaction (Rapport F.A.O).

Dans notre cas, des bactéries fermentaires ont été isolées, la faible augmentation de l'azote volatil pourrait être imputable à leur activité.

- pH.

Le pH diminue très doucement de 5,64 à 5,5 pour le fût A et de 5,64 à 5,45 pour B.

La forte concentration en chlorure de sodium du milieu influe sur la mesure du pH, mais les mesures ont toutes été effectuées dans les mêmes conditions. On peut donc conclure que l'acidité du milieu augmente sensiblement.

- Taux de matières grasses.

L'évolution de la quantité de graisses dans la chair est en rapport avec celle du taux d'humidité. La figure 9 nous permet de noter un fait intéressant : l'exsudation d'eau se fait beaucoup plus vite que celle des graisses qui n'atteint le palier minimum qu'au bout d'un mois d'entreposa En fin de maturation le taux des lipides remonte légèrement, fait qui découle de la diminution de l'humidité de la chair.

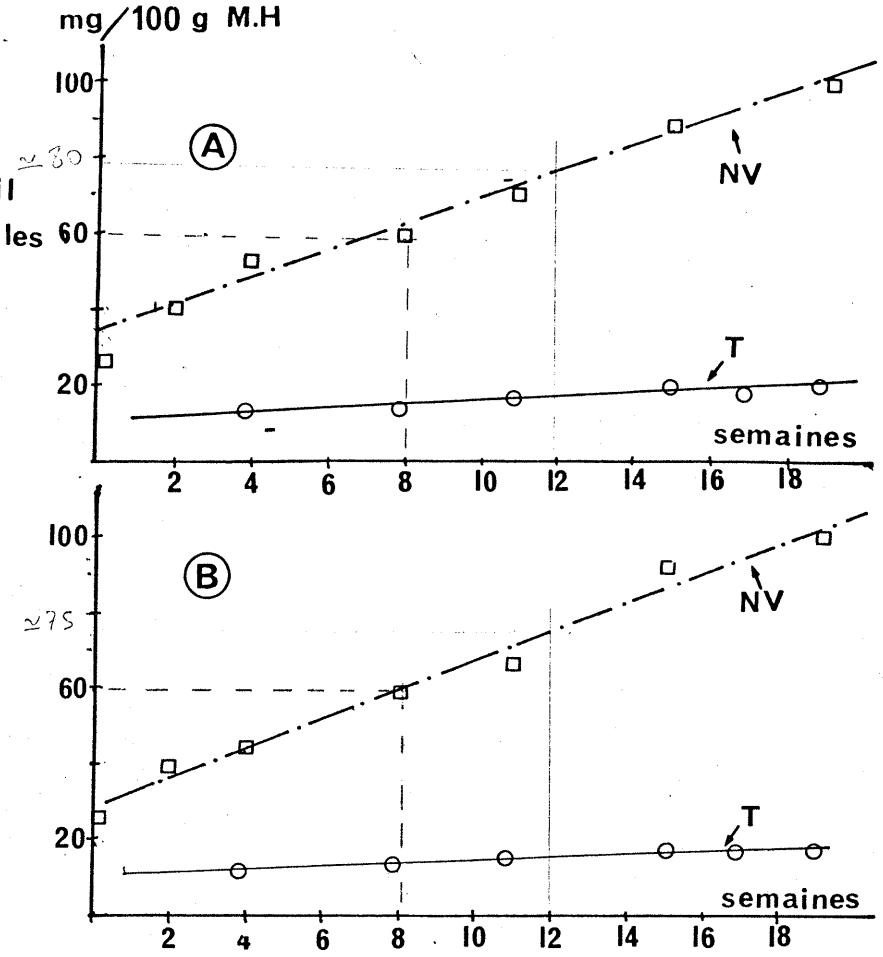
Analyse de la saumure.

La saumure était filtrée avant les tests. Seules les molécules étaient donc analysées.

Le taux de chlorure de sodium évolue assez fortement pendant le premier mois car il passe de 19 % en moyenne à 23,7 %, mais reste stationnai et en fin de maturation ce taux atteint 24 %.

Les courbes d'azote total et d'azote aminé (fig. 10) sont assez semblables. Il semblerait donc que seules les petites unités peptidiques

fig 8 Taux d'azote volatil et d'amines tertiaires volatiles



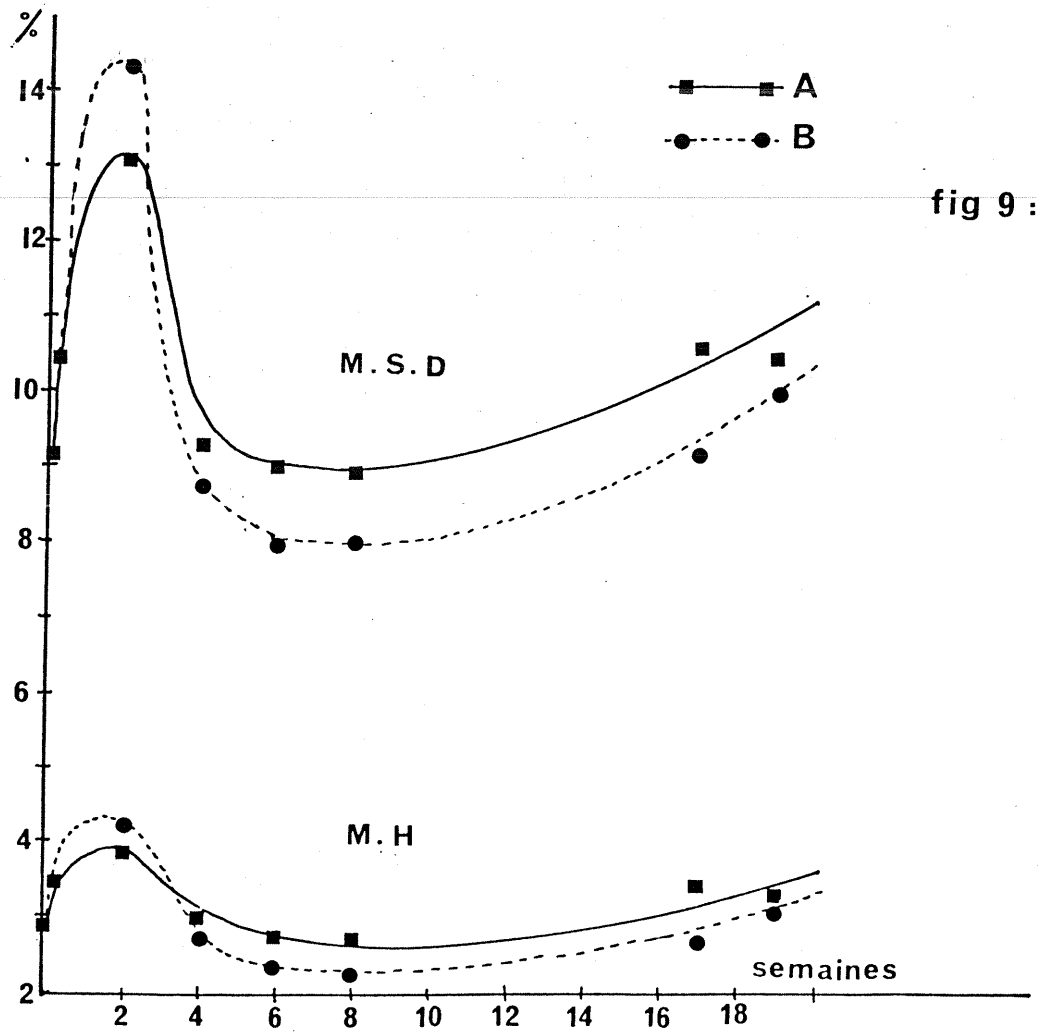
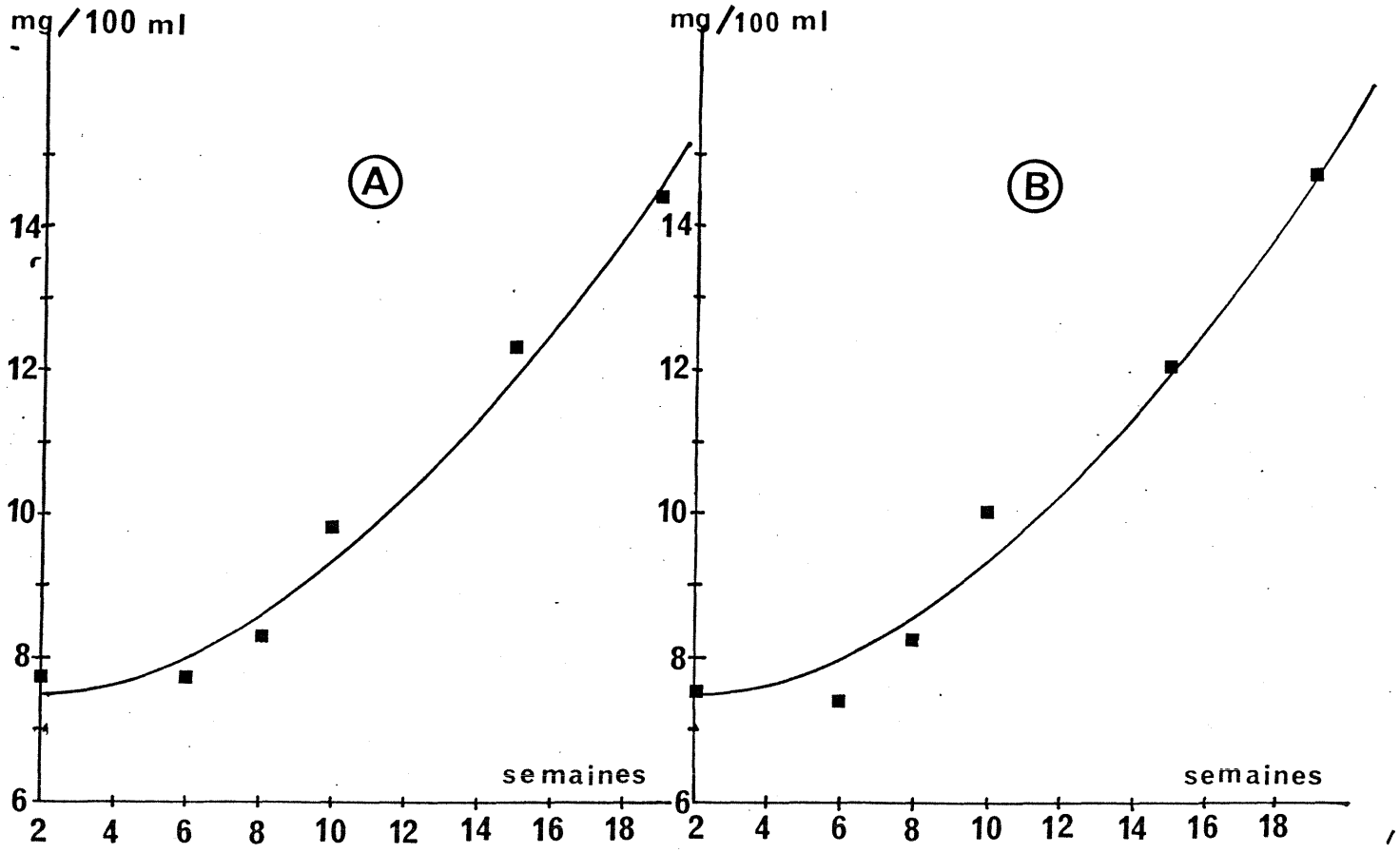
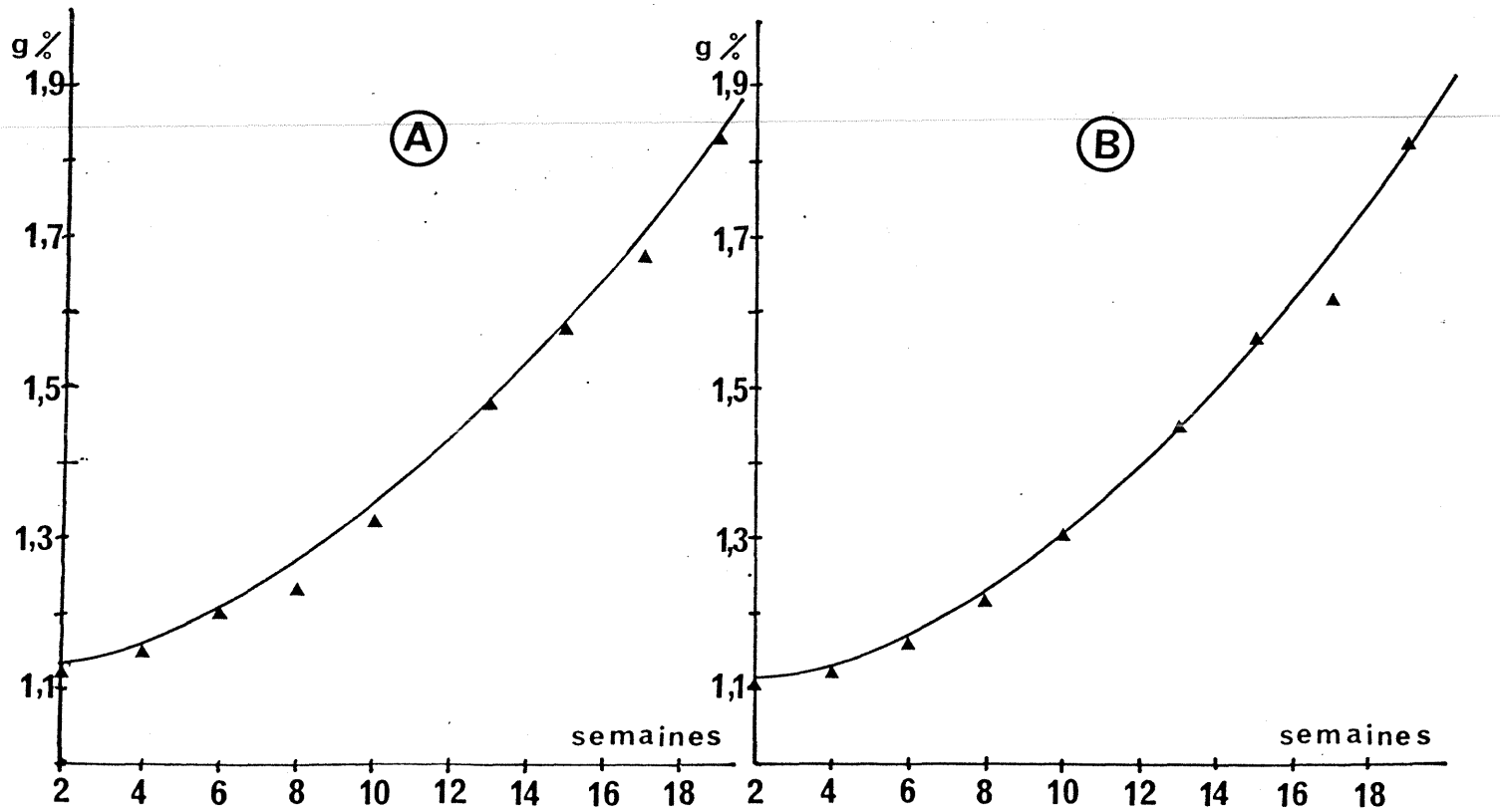


fig 9 : Taux des graisses

(fig 10) Analyses de la saumure



Azote aminé



Azote total

et surtout les acides aminés seraient solubles dans la saumure.

L'allure générale des courbes pourrait donner lieu à deux explications. La protéolyse se faisant, elle libèrerait des unités de plus en plus petites dont la solubilité dans la saumure est plus facile. De plus la trame protéïque étant plus lâche les échanges se feraient mieux et l'exsudation lente du liquide du poisson entraînerait des petits peptides et des acides aminés.

Le pH de la saumure diminue de la même façon que celui de la chair, il passe de 5,7 et 5,45.

4.2.- Etude microbiologique.

Le but de l'étude microbiologique a été de s'assurer de la présence, de l'importance et de l'évolution d'une éventuelle population bactérienne.

Dans le cadre d'un contrôle d'ordre sanitaire on essaye de déceler les microorganismes indiquant une contamination dangereuse pour la santé et qui ne se rencontrent qu'accidentellement dans les denrées alimentaires. Ils peuvent soit y proliférer, soit y rester à l'état de vie ralentie quand les conditions de milieu ne leur sont pas favorables. Par contre, s'il se trouve dans l'anchois salé des microorganismes susceptibles de jouer un rôle dans la maturation, ils seront parfaitement adaptés au milieu. C'est pourquoi les conditions de l'expérimentation ont été choisies de façon à se rapprocher au maximum des conditions de la maturation.

A. Matériel et méthodes.

1.- Choix du milieu de culture de base.

Il existe dans la littérature un certain nombre de milieux définis pour l'étude de la microflore du sel et des saumures.

dans sa thèse sur la microflore des saumures fromagères constate que les milieux A, B et C donnent des résultats comparables et qu'ils peuvent être employés indifféremment.

./.

Milieu A. (GIBBONS)

- Yeast extract Difco	10 g
- Protéose - peptone n° 3	5 g
- Casamino acids Difco	5 g
- K Cl	2 g
- Citrate trisodique	3 g
- Mg SO_4, 7 H_2O	20 g
- NaCl soit 50, 100, 150 ou 200 g	
- H_2O distillée	1 000ml

pH - 7,0 - 7,2
+ 20 g d'agar

Autoclavage : 121°C - 15 mn
Filtrer, ajuster à pH 7 - 7,2
Autoclavage : 121°C - 15 mn

Milieu B. (PENSO)

- Beef extract Difco	10 g
- Peptone	5 g
- Yeast extract Difco	5 g
- Agar	30 g
- NaCl 50, 100, 150, 200 g	
- H_2O distillée	1 000 ml

pH = 7,2
Autoclavage : 121°C - 15 mn

Milieu C. (Mme VEILLET)

- Yeast extract Difco	2 g
- Saccharose	50 g
- Tryptone	5 g
- K_2H PO_4	0,5 g
- Mg SO_4 , 7 H_2O	0,1 g
- NaCl 50, 100, 150, 200 g	
- Agar	20 g
- H_2O du robinet	1 000 ml

pH = 7 - 7,2
Autoclavage : 121°C - 15 mn

./.

Dans la composition du milieu de Penso entre un nombre important de composés complexes d'origine biologique apportant des éléments susceptible d'être indispensables. Il présente en outre l'avantage de ne pas précipiter pendant l'autoclavage même à des concentrations salines élevées. C'est pourquoi nous l'avons choisi.

2.- Concentration en chlorure de sodium et pH.

Saïsithi rapporte que la concentration optimale en NaCl convenant à 70 % des bacilles halophiles approche 20 % et que leur pH optimal se situe entre 6,5 et 7,5. On a donc ajouté 200 g de sel par litre de milieu et afin de respecter les conditions du milieu de Penso le pH a été ajusté à 7/7,2. Il se trouve que cette concentration est légèrement inférieure à celle du poisson mais elle reste cependant suffisante si l'on tient compte de l'évaporation qui intervient au cours de la préparation du milieu et des boites de Pétri.

3.- Schéma expérimental.

Les prélèvements ont été faits à partir des fûts A et B, dans des pots stériles à l'aide d'instruments flambés à l'alcool, les échantillons étant ensuite immédiatement entreposés entre 0 et + 4°C.

Lors de chaque prise d'essai on pesait dans deux erlens 20 g de saumure et 20 g de poisson auxquels on ajoutait respectivement 80 ml d'eau physiologique peptonée à 1 ‰ et salée à 20 %.

Avant de faire les dilutions convenables, la chair était broyée à l'aide d'un broyeur "Ultra tumax".

L'ensemencement était fait par étalement de 0,2 ml de chaque dilution, quatre fois, sur des boites de milieu préalablement séchées. Deux des boites étaient mises à incuber en aérobiose et les deux autres en anaérobiose, celle-ci étant réalisée à l'intérieur de chaque boite par le pyrogallol alcalin (R. Buttiaux, H. Beerens, A. Tacquet).

4.- Température et durée d'incubation.

L'anchois ne mûrissant pas à des températures élevées, les tonneaux sont en général entreposés dans des locaux frais (15 à 20°C l'été et un peu moins l'hiver). Certains auteurs étudiant la microfore du sel de mer et des poissons fermentés ont incubé leurs cultures à 20°C (Saïsithi) ou à 25°C (Y. Ishida et T. Fujii). C'est pourquoi nos boites furent simplement laissées à la température du laboratoire.

./.

La durée d'incubation était fonction de la vitesse de croissance des bactéries. De plus on a remarqué très rapidement que les couleurs des colonies évoluaient avec le temps ; c'est la raison pour laquelle les dénombrements n'étaient faits qu'à partir du moment où les colonies avaient acquis une couleur franche.

5.- Isolement et étude des souches.

On a isolé des souches dans le but de connaître qualitativement les groupes de bactéries présentes.

Après dénombrement, en choisissant dans chaque type de boite celles qui présentaient le maximum de colonies différentes bien séparées les unes des autres.

On repiquait les colonies représentatives en double sur gélose inclinée de composition identique à celle du milieu de base. Les bactéries provenant des boites incubées en anaérobiose étaient par ailleurs ensemencées dans une gélose profonde régénérée et refroidie à 45°C.

Dès que les cultures étaient suffisamment abondantes on procédait à l'examen des bactéries à l'état frais et, après coloration de Gram. La mobilité pouvait être aisément observée, le microscope étant muni d'un condenseur fond noir.

Le polymorphisme des bactéries halophiles et la difficulté que présentent certains groupes à prendre la coloration de Gram ont fait que toutes les souches ont été traitées de façon identique. De plus il est intéressant de pouvoir comparer différents caractères susceptibles d'apporter un éclaircissement sur l'incidence des bactéries dans le phénomène de l'anchoitage. A cet effet, on a tout spécialement recherché la gélatinase, une lysine et une arginine décarboxylase, et une phenylalanine desaminase (oxydative);

Le choix des autes tests a présenté certaines difficultés. Les groupes susceptibles de se trouver dans un milieu hypersalé à des températures voisines de 20°C appartiennent en majorité aux familles des Pseudomonaceae (Y. Ishida et T. Fujii) et des Micrococcaceae (Ivanova, Y. Ishida et T. Fujii, Saïsithi). C'est ainsi que les tests suivants ont été effectués.

- type respiratoire,
- mobilité sur gélose molle
- recherche de la catalase et de la cytochrome oxydase;

./.

- comportement vis à vis des sucres : oxydation et fermentation du glucose et du lactose (Milieu de Hugh et Leifson),
- réduction des nitrates.

On a fait appel aux techniques usuelles (Mme Veillet et R. Buttiau H. Beerens et A. Tacquet) en adjoignant simplement aux divers milieux 15 % de sel.

B.- Résultats.

1.- Dénombrements;

Les couleurs des colonies étaient assez proches les une des autres, c'est pourquoi il a été difficile d'en faire un critère de dénombrement pour les différentes espèces. C'est la raison pour laquelle, dans le cadre de cette étude préliminaire nous n'avons procédé qu'à des dénombrements globaux (tableau 1).

Toutefois les couleurs nous aurons permis de faire les isolements et d'estimer l'importance relative des groupes.

Le premier prélèvement effectué immédiatement après la mise en baril a permis de mettre en évidence l'action sélective du sel vis à vis de certaines bactéries. Le nombre de microorganismes présents en début de maturation est très faible malgré les diverses manipulations du poisson et du sel.

Les courbes de croissance (fig. 11 et 12) sont établies en valeurs logarithmiques. Il est intéressant de noter qu'en début de maturation la croissance est quasi exponentielle. La phase de latence relativement longue précède une véritable explosion bactérienne. On n'atteint la phase stationnai qui dure en moyenne un mois qu'au bout de deux mois à deux mois et demi d'entreposage. Après quoi le nombre de bactéries décroît sensiblement.

Cette évolution bactérienne est qualitativement semblable à celle du saucisson sec, bien que le nombre de microorganismes soit dans notre cas plus faible (10^7 à 10^8 cellules/g de saucisson sec en début de phase stationnaire (J. Rozier)).

2.- Classification des souches (*)

Les tableaux 2 et 3 résument les résultats obtenus à partir

(*) Mme Veillet, R. Buttiaux, H. Beerens, A. Tacquet).

./.

d'une centaine de souches repiquées.

Comme on l'a déjà signalé plus haut le polymorphisme est très courant chez les bactéries halophiles, c'est pourquoi les regroupements ont été faits à partir des propriétés biochimiques de chaque souche. Ainsi, dans chaque grand groupe on retrouve toutes les morphologies variant entre la forme bacillaire et la forme cocoïde.

Les groupes 1 et 2 constituent la quasi totalité des souches présentes dans les deux fûts, le groupe 1 étant sensiblement majoritaire. Les bactéries qui y appartiennent possèdent une cytochrome-oxydase et sont en général alcalinisantes ou inertes vis à vis des sucres, faits qui les rapprocheraient du genre Pseudomonas. Celles du groupe 2 sont dépourvues d'oxydase et sont plutôt oxydantes ou inertes ce qui les apparenteraient au genre Flavobacterium.

Le groupe 3 (Microccoques) serait plutôt présent dans le fût A et constitué de bactéries se rapprochant beaucoup des vibrios marins, est exclusivement représenté dans le baril B.

Le groupe 5 réunit les autres genres, entre autres Neisseria, Cytophaga.

Si l'on s'attache à faire une analyse globale des caractères des souches on note que celles-ci sont en général peu actives vis à vis des acides aminés étudiés, de la gélatine et quelquefois des sucres. Par contre, elles réduisent presque toutes les nitrates en nitrites, certaines avec production de gaz. A part les vibrios qui sont tout à fait anaérobies et les microccoques qui sont microaérophiles, les autres souches sont toutes aérobies. Or, le salage important et la forte compression des poissons dans les tonneaux entrainent des conditions d'anaérobiose presque parfaite.

Les pseudomonas dénitrifiants ont la faculté en l'absence d'oxygène d'utiliser les nitrates comme accepteur final d'électrons (R. Butti H. Beerens, A. Tacquet). On a effectué un essai en ensemençant 30 souches, prises au hasard parmi les 100 étudiées, dans une gélose profonde nitratée. Sur toute la longueur de chacun des tubes on a assisté à une prolifération intense, 1/3 environ produisant des gaz.

La présence de nitrates dans les tonneaux expliquerait non seulement la prolifération des bactéries aérobies mais aussi le rougissement de la chair au cours de l'anchoitage. En effet le saucisson sec, la dénitrification et la fixation d'oxyde d'azote sur la myoglobine provoque

./.

ECHANTILLONS		A P		B P		A S		B S	
N°	Date	Aeo.	Ana.	Aeo.	Ana.	Aeo.	Ana.	Aeo.	Ana.
1	15 mai	20	20	20	20	20	20	20	20
2	29 mai	54	73	45	1 600	962	100	600	1 600
3	16 juin	2 850	2 200	14 000	25 000	3 000	3 200	320 000	320 0
4	12 juillet	35 000	14 000	415 000	300 000	150 000	170 000	4 100000	1 7000
5	31 juillet	17 000	17 000	420 000	540 000	230 000	170 000	1 900000	3 5000
6	14 août	22 000	21 000	154 000	220 000	150 000	180 000	1 800000	1 9000
7	18 août	13 000	9 000	46 000	30 000	60 000	50 000	490 000	230 0
8	25 sept.	7 000	34	6 000	2 500	5 000	4 500	12 000	10 0

Tableau 1.

- Nombre de bactéries par gramme de produit -

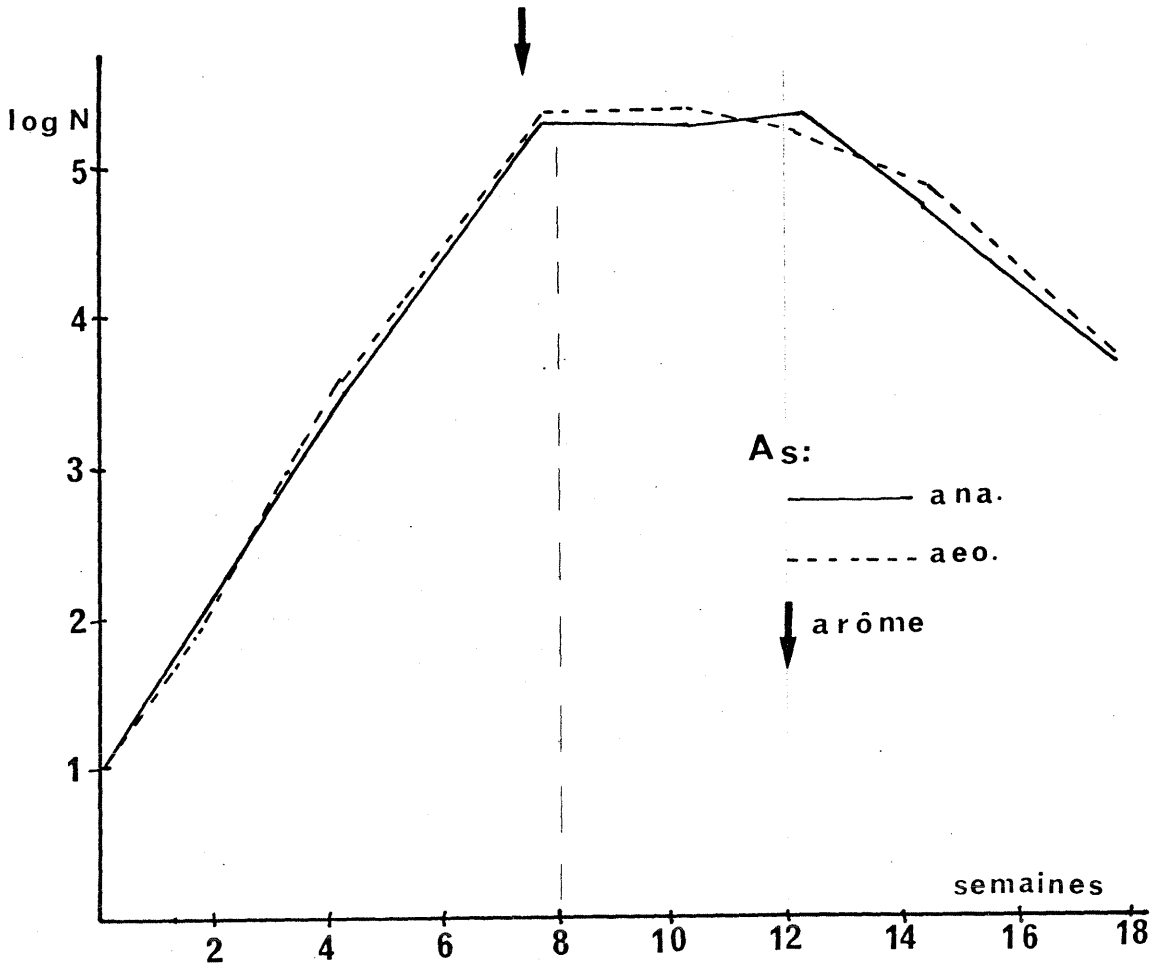
A P : poisson du fût A

B P : poisson du fût B

A S : saumure du fût A

B S : saumure du fût B.

fig 11 : Denombrements Fût A



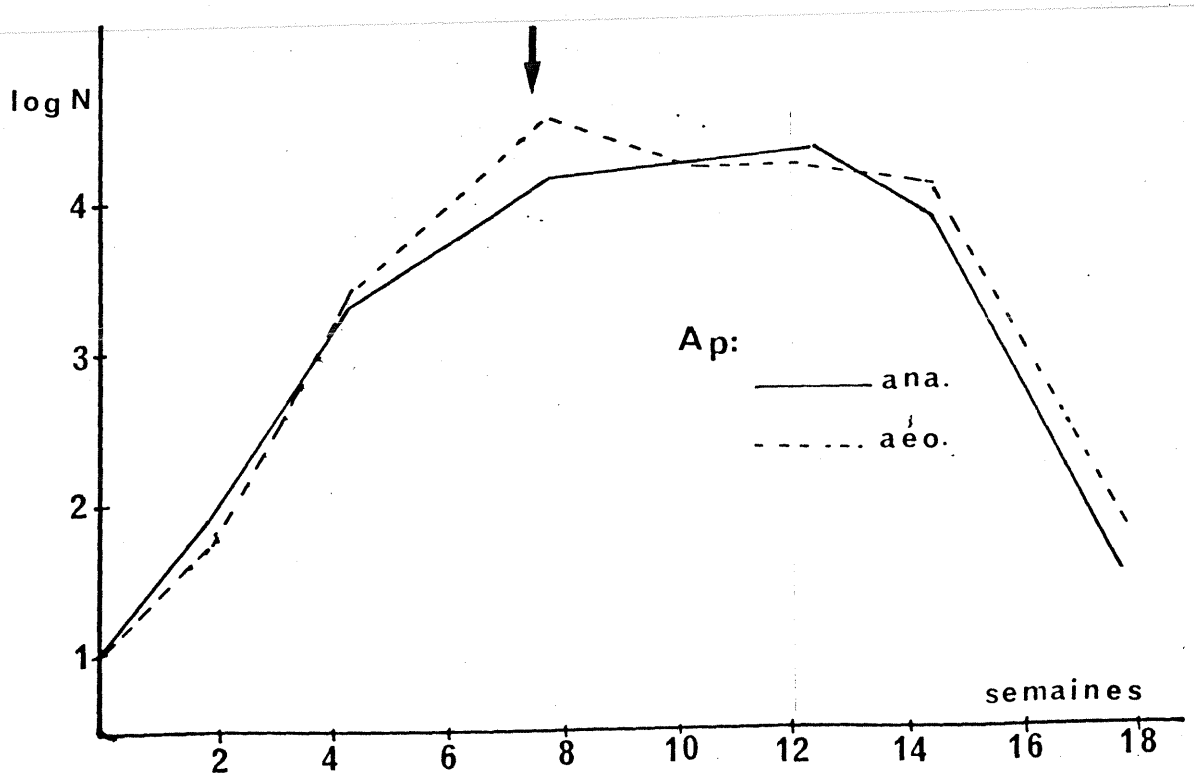
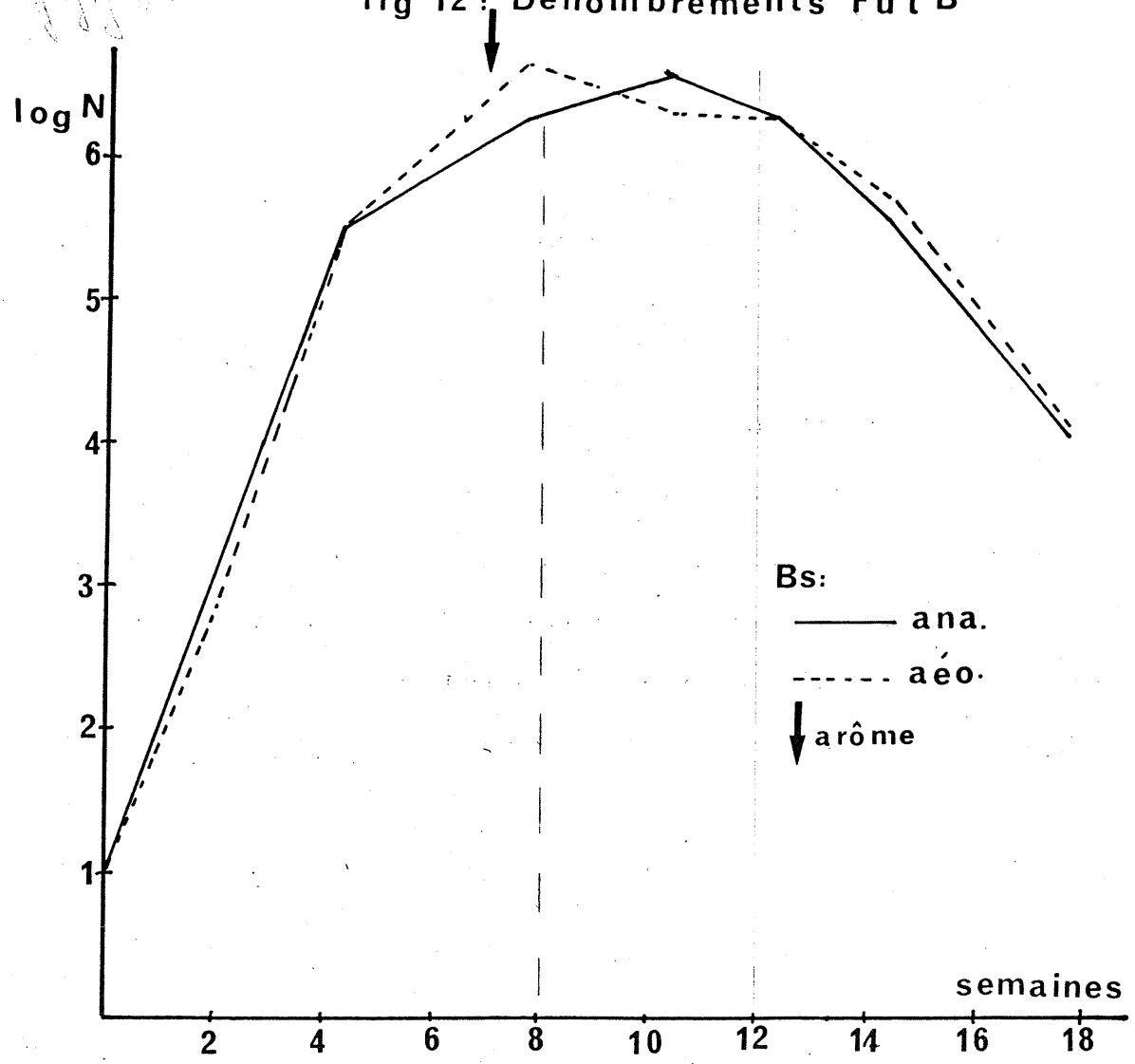
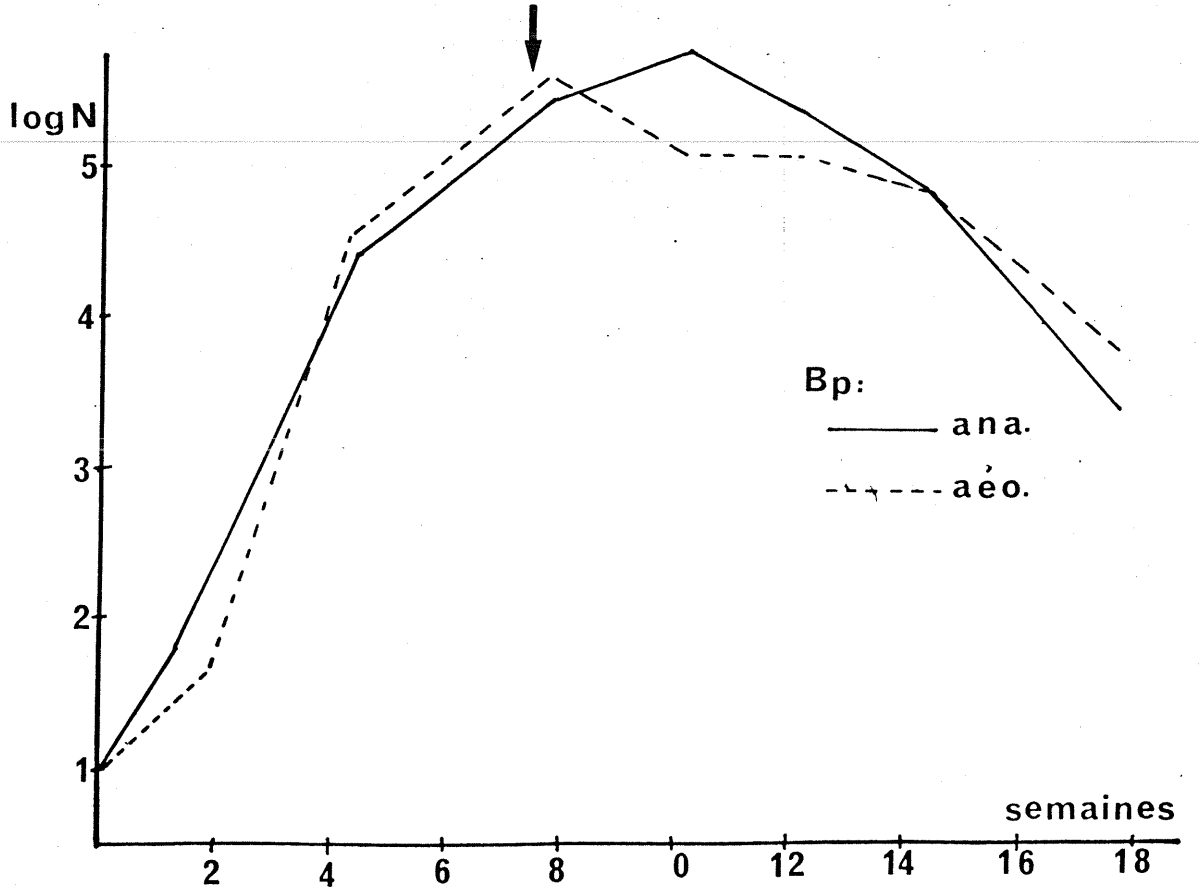


fig 12 : Dénombrements Fût B





Forme Groupe	Mob.	Gram	Cat	oxy.	redN	G	g	L	l	resp	gel	lys.	arg.	APP	N° des souch
B. fins très polymorphes	++	−	+	+	+	−	−	−	−	aeo	±	−	−	−	IIB21/IIB16
															IA23/IA27
															IIB12/IIA23
															IIA20
1	++	−	+	+	+	−	−	La	−	aeo	±	−	−	−	IA25/IA29
															IIA21
	++	−	+	+	+	Ga	−	−	−	aeo	±	−	−	−	IIB17/IIA15
	++	−	+	+	+	−	−	−	−	aeo	+	−	−	−	IIA24/IA7
Gros bacilles polymorphes	+	−	+	+	+	−	−	−	−	aeo	−	−	−	−	IIA22/IA20
															IB14/IIB25
															IA28
1	+	−	+	+	+	−	−	La	−	aeo	±	−	−	−	IB12/IB22
															IA18/IB16
															IA26/IIA13
	+	−	+	+	+	−	−	−	−	aeo	+	−	−	−	IIA28
Coccobacilles polymorphes	+	−	+	+	+	Ga	−	La	−	aeo	±	−	−	−	IIA25/IIA27
															IA16/IIA4
	+	−	+	+	+	Ga	−	La	−	aeo	±	−	−	−	IIA29/IIA19
1	+	−	+	+	+	Ga	−	La	−	aeo	−	+	−	−	IA8/IB5
	+	−	+	+	+	+	−	+	−	aeo	++	+	−	−	IIB5
Coccis	+	−	+	+	+	−	−	La	−	aeo	−	±	±	±	IIA16/IIB27
															IIB15/IIB26
															IIB14/IA19
															IA15/IIB19
1	+	−	+	+	+	+	+	+	±	aeo	o	++	−	++	IIB3

Tableau 1. bis

RedN : réduction des nitrates
G : oxydation du glucose
Ga : alcalinisation du glucose
g : fermentation du glucose
L : oxydation du lactose
La : alcalinisation du lactose
l : fermentation du lactose
resp : type respiratoire : A.A. (aéro-anaérobie), M (microaérophile)
I A : souches du fût A repiquées à partir des boites incubées en aérobiose
I B : " B " " "
II A : " A " " anaérobiose
II B : " B " " "

Forme Groupe	Mob.	Gram	cat	oxy.	redN	G	g	L	l	resp	gel.	lys.	arg.	APP	N° des souc
B. fins très polymorphes	+	−	+	−	+	−	−	−	−	aeo	−	−	−	−	IB19/IB10/I
	+	−	+	−	−	+	−	+	−	aeo	−	+	−	−	IB7/IIB1
	+	−	+	−	−	−	−	−	−	aeo	−	−	−	−	IIA6
2	±	−	+	−	−	+	±	−	−	aeo	±	−	−	−	IIB11/IIB10
															IIA11/IA4
Gros bacilles polymorphes	+	−	+	−	+	+	−	+	−	aeo	−	±	−	−	IA2/IA24
	+	−	+	−	+	−	−	−	−	aeo	±	±	−	−	IIA17/IIA14
2															IIB8/
Coccobacilles polymorphes	+	−	+	−	−	+	−	−	−	aeo	+	+	−	+	IIA7
	−	−	+	−	+	−	−	−	−	aeo	−	−	−	−	IIA18/IIB4
2															IB2
Vibrios	++	−	+	+	++	++	−	−	−	A.A	++	±	++	−	IB9/IIB9/IB
															IIB22
	++	−	+	+	+	++	++	−	−	A.A	++	−	++	−	IIB11/IB17
4															IIB7/IIB13
	++	−	+	+	+	++	++	−	−	A.A	++	+	+	−	IB18
	++	−	+	+	−	++	++	−	−	A.A	++	−	++	−	IB21/IB15/I
															IIB6
Coccis	−	+	+	−	+	−	−	−	−	M	−	−	−	−	IA3/IIA12
															IA13/IIA8
															IA9/IA1/IB1
3	−	+	+	−	+	−	−	−	−	M	+	+	−	−	IIA2/
	−	+	+	−	+	−	−	−	−	M	±	−	−	+	IA12
	−	−	+	±	+	−	−	−	−	A.A	−	−	−	−	IIA26
B. flexueux	+	−	+	+	+	−	−	−	−	A.A	−	+	−	−	IIB20/IIB2
B. fins	−	−	+	−	−	+	+	±	−	aeo	−	−	−	−	IA17
Coccis	−	−	+	+	+	−	−	−	−	aeo	±	±	−	±	IIA9/IB8/II
5															IB6/IA10

Tableau 2.

le rougissement de la pâte (J. Rozier).

Il est fort probable que les nitrates soient présents naturellemen dans le milieu, un litre d'eau de mer renfermant en moyenne 250 µg NO_3^- exprimé en azote, mais leur importance, notamment leur évolution dans le milieu demanderait à être précisée.

4.3.- Synthèse et conclusions sur la partie expérimentale.

Notre étude en laboratoire a permis de mettre en évidence dans nots anchois salé les deux phénomènes suivants :

- l'existence d'une activité protéolytique,
- l'existence d'une croissance bactérienne.

La protéolyse est fortement ralentie par l'action du sel en début de maturation et prend ensuite une allure quasi linéaire compte tenu des variations de température pendant l'entreposage. De plus on n'observe aucun décrochement de la courbe ni au moment du "boum" bactérien ni au cours de la phase stationnaire de croissance des microorganismes. L'activité protéolytique serait vraisemblablement inhérente à la matière première et pourrait être notamment imputable aux cathepsines du muscle du poisson normalement très active.

La croissance microbienne se présente sous une allure classique mais le nombre des bactéries reste relativement faible. Ce fait pourrait éventuellement provenir d'un milieu de dénombrement mal adapté. De plus le temps de latence important proviendrait du faible nombre de germes au départ et aussi de la forte concentration en sel du milieu obligeant les microorganismes à s'adapter (Viallard - Goudou). On peut aussi remarquer que la phase exponentielle ne démarre qu'à la fin de l'exsudation des matières grasses.

La diminution de pH et l'augmentation de l'azote volatil, quoique assez faibles, permettent d'entrevoir l'importance des dégradations principalement au niveau des graisses, des acides gras et des acides aminés qui seraient susceptibles d'engendrer non seulement des acides carboxyliques mais aussi d'autres composés, notamment des carbonyles. Plusieurs auteurs cités estiment que la fraction volatile de ces corps est responsable en grande partie de l'arôme des produits à base de poissons fermentés.

./.

L'arôme apparaît brusquement en trois jours ce qui est normal compte tenu de l'effet seuil que présentent beaucoup de composés aromatiques mais il est essentiel de remarquer que son apparition coincide avec le début de la phase stationnaire de croissance des bactéries.

Il ne serait donc pas invraisemblable que les qualités organoleptiques des produits découlent de l'activité protéolytique propre aux muscles du poisson et que les qualités aromatiques du produit et le rougissement de la chair soient le fait des bactéries.

Ce travail sans avoir la précision d'une étude analytique fine, nous aura toutefois permis d'approcher shématiquement l'explication du phénomène de l'anchoitage et surtout d'ouvrir la voie à des études ultérieure plus approfondies.

III.- Perspectives et propositions pour une étude future.

L'explication d'un phénomène complexe tel que celui de l'anchoitage nécessite la dissociation des facteurs qui interviennent, et l'étude des corrélations entre lesdits facteurs. L'expérience des saleurs et l'examen des données de la biologie et de la pêche contribueront, sans doute, à cerner les facteurs prioritaires et à déterminer la hiérarchie des investigations, sans toutefois négliger les problèmes qui pourraient être résolus aisément. Ainsi dans cette troisième partie seront considérés tour à tour les éléments liés à la matière première et ceux concernant les traitements technologiques.

III.1.- Exploitation des données de la biologie et de la pêche.

Toutes les données ont été recueillies par MM. Vincent, Guérault et Avrilla grâce aux missions effectuées sur les bateaux de l'ISTPM et grâce aux enquêtes de pêche. Ces dernières ont été exploitées avec toutes les précautions requises car les pêcheurs s'attachent à ne prendre que du gros poisson commercialement rentable. Par ailleurs les moules sont estimés à partir de lots non homogènes. Néanmoins les auteurs ont constitué des schémas de capture intéressants.

Un problème nouveau relatif à la matière première a surgi il y a quelques années avec le début de la pêche de l'anchois en Vendée-Bretagne. Comme nous l'avons déjà signalé celui-ci exige 6 mois à 1 an supplémentaires pour mûrir. C'est pourquoi l'exploitation des données de la biologie et de la pêche apportait sans doute des éclaircissements sur les différences les plus marquées entre l'anchois "normal" des Landes et celui de Bretagne-Vendée.

Du point de vue de la pêche la différence entre les deux origines est double, les lieux et les saisons de pêche ne coïncidant pas. La frontière géographique est matérialisée par l'estuaire de la Gironde, au sud l'anchois est capturé en avril-mai et juin, tandis qu'au nord il l'est en août, septembr et octobre.

La pêche démarre plus tôt sur la côte des Landes car le réchauffemen de l'eau y est plus précoce. A chaque début de campagne la prise de gros poissons de 2 et 3 ans assure aux pêcheurs de gros moules et des lots homogène (35 - 45 kg). En mai, la dispersion des tailles s'accentue, les captures luziennes sont alors essentiellement constituées de poissons de 1 et 2 ans.

./.

Enfin, en juin les poissons de 1 an fournissent la production de fin de saison les moules variant de 45 à 75/kg.

Plus au nord, en Vendée-Bretagne le schéma de pêche est moins net et les captures sont généralement représentées par les classes d'âges II et surtout I. L'écart entre les moules suit par contre une évolution inverse de celle observée à Saint Jean de Luz. Au début de la campagne vendéenne la dispersion des moules est importante, 50 à 80/kg mais passe de 35 à 50/kg fin octobre. Cette évolution découlerait de la croissance sur place de poissons d'un an. Leur développement reprend très tôt en avril et se poursuit activemen tout au long de l'été alors que la nourriture est abondante. Le poisson passerait d'une taille de 120 à 125 mm en juin-juillet (moule de 80/kg) à une taille de 130-140 mm en août-septembre et de 150 mm en octobre (moule de 35 à 50/kg).

Quoique ces chiffres aient été obtenus à partir de poissons formolés de classes d'âge homogène, ils restent intéressants et expliquent en partie l'évolution des moules fournis par les enquêtes de pêche bien qu'ils leur soient en général inférieurs. En effet à une majorité d'anchois d'un an viendraient s'ajouter des éléments de 2 et même 3 ans.

Une légère dispersion des moyennes vertébrales a pu faire croire que l'on avait à faire à deux races d'anchois en Atlantique. En fait on pense maintenant qu'une même population se déplacerait durant l'été, l'anchois remontant vers le nord au fur et à mesure que la température de l'eau augmente

Les conditions thermiques sont déterminantes pour la famille des Clupéïdés et les anchois exigent une température seuil (12 à 14°) pour apparaître sur les lieux de pêche, mais les auteurs n'ont pu trouver aucune corrélation précise entre la température de l'eau et la qualité du poisson.

Par ailleurs, l'anchois n'échappe pas à la règle générale et son état physiologique est étroitement associé à son cycle sexuel. L'observation des frayères et l'examen de la composition du poisson au cours de l'année complèteront les renseignements fournis par les auteurs.

Au printemps les frayères restent localisées à la côte landaise, tandis qu'en juin-juillet elles s'étendent à tout le secteur du golfe de Gascogne. Les pontes d'été sont plus longues et moins abondantes que celles du printemps (S. Arbault et N. Lacoix). On attribue en général le frai principal à des poissons de 2 et 3 ans à maturité sexuelle précoce et qui apparaissent les premiers sur les lieux de pêche luziens, alors que la ponte

d'été semble être le fait de poissons sexuellement plus tardifs, probablement de ceux qui entament leur deuxième été et qui ont une zone de migration plus large.

Quant à la composition du poisson aucune étude précise relative à l'anchois vendéen ou landais n'a été entreprise. Cependant trois auteurs se sont penchés sur l'évolution de la teneur en matières grasses de l'anchois mais ils ne se sont malheureusement pas intéressés à la même espèce. Toutefois leurs résultats permettent d'aborder le problème.

Références	% graisse minimum	% graisse maximum
FRAGA F. (1955) Engraulis Encrasicholus L. Atlantique	13 mars 1954 Poids moyen 11,97 % graisses 1,44	30 décembre 1953 Poids moyen 11,54 % graisses 6,05
ALTA ACARA (1956) E. e, ponticus Mer Noire	14 avril 1954 Poids 3,87 g % graisses 5,68	17 janvier 1954 Poids 11,97 % graisses 12,87
Brand Horst W. (1966) E. ringens, Jenys Chili	août - octobre 1961 Longueur 14 - 17 cm % graisses 1 - 2 %	février - mai 1962 longueur 14 - 17 cm % graisses 10 - 12 %

Tableau 3.

Quelle que soit l'espèce envisagée on note que la teneur en matières grasses du poisson passe par un maximum après la bonne saison et par un minimum juste avant la ponte. Par ailleurs, Brand Horst remarque la constance du taux de matière sèche dégraissée, ce qui est confirmé par les chiffres de F. FRAGA, la teneur en protéïnes de l'anchois atlantique oscillant entre 20 et 22 % et celles des cendres entre 1,5 et 2 %.

Après avoir passé en revue les facteurs susceptibles d'expliquer l'hétérogénéïté de la matière première, il est apparu que la seule différence notable entre les deux origines semblait être liée à l'état physiologique des individus. En effet l'anchois luzien pêché immédiatement avant ou après la ponte serait maigre tandis que le vendéen capturé après la reconstitution

./.

de ses réserves lipidiques serait bien plus gras.

Les saleurs, par les observations empiriques qu'ils sont en mesure de faire, semblent confirmer nos hypothèses. Si le moule reste important pour le rendement au salage, il ne semble pas avoir un effet déterminant sur la durée de maturation. En effet, en Vendée il a été pêché en 1971 du très gros poisson de moule inférieur à 40 mais dont la maturation a exigé 18 mois et plus

De plus la même année les luziens ayant bénéficié d'une arrière saison exceptionnelle se sont vu confrontés au même problème. De la même façon, les anchois de Turquie généralement très gras (ALTA ACARA) demandent beaucoup de temps pour mûrir.

Il ne faudrait cependant pas omettre de noter un élément important. Le poisson pêché en automne n'est pas exposé, au début de sa maturation, aux fortes chaleurs estivales susceptibles d'enclancher le mécanisme d'anchoit.

Aussi, avant de commencer toute étude complète, il serait opportun de s'assurer que la différence de comportement observée persiste en présence de lots qui ont été exposés à des températures identiques.

III.2.- Plan de travail proposé pour une étude du "facteur" matière première.

Il est donc possible de proposer le schéma expérimental suivant : deux lots de provenance l'un landaise et l'autre vendéenne seraient mis "au se à la même température. Pendant cet essai il conviendrait de suivre très attentivement :

- la concentration en lipides de la chair, les saleurs estiment que l'anchois ne commence à mûrir qu'au moment où la plus grande partie de la graisse a exsudé.
- la protéolyse, le rapport FAO signalant une différence d'activité protéolytique des viscères de certains poissons selon les saisons.
- la croissance des microorganismes.

Toutefois il reste essentiel de bien connaître la composition du poisson avant tout salage et surtout de bien déterminer les constituants lipidiques de la matière grasse, car il est apparu aux saleurs que l'anchois d'arrière saison exsudait une graisse de caractère particulier.

./.

III.3.- Poursuite de l'étude de maturation proprement dite.

Lors d'importation d'anchois congelé, les saleurs ont remarqué que celui-ci présentait un temps de maturation d'une longueur incompatible avec les exigences technico-économiques de la production. C'est pourquoi il serait intéressant d'associer un protocole expérimental précédent l'essai de maturation d'un lot de poissons congelés, dans le but de vérifier la présence d'une croissance microbienne, l'action létale du froid sur les bactéries étan reconnue. La correspondance entre la durée de maturation, la longueur de la phase de latence des bactéries et l'intensité de la protéolyse permettrait de cerner de façon plus précise :

- l'influence de la concentration en acides aminés sur la croissance bactérienne,
- le rôle des microorganismes dans l'anchoitage.

Dans le cadre d'une étude plus théorique visant à donner une meilleur explication du phénomène de maturation il serait envisageable de rechercher les composés volatiles (carbonyles, acides gras et amines) qui, de l'avis des auteurs déjà cités seraient primordiaux dans le développement des caractères spécifiques de chacun des produits carnés fermentés.

Le taux faible de matières grasses et l'exsudation de celles-ci au cours du salage ont fait que peu d'auteurs se sont penchés sur les phénomènes de lypolyse et de coupure des acides gras qui ne doivent pas être négligeable compte tenu du contexte ionique du produit et de la forte proportion d'acides gras insaturés des lipides du poisson. Ce domaine serait aussi intéressant à explorer.

Une expérimentation poussée sur les souches de microorganismes isolées, seules ou en association, et notamment une étude des produits de leur fermentation à partir de macérations de chair d'anchois en relation avec les recherches précédentes, apporterait sans doute de riches renseignements sur l'anchoitage. De plus la faculté de réduction des nitrates par les bactéries isolées mériterait d'être approfondie dans l'hypothèse où elle jouerait un rôle dans le rosissement de la chair.

Ces observations présenteraient en outre l'avantage de déboucher sur des applications industrielles.

A N N E X E

Méthodes de dosages biochimiques

I. Dosage de l'azote.

1. Azote total : Méthode de Kjeldahl

On minéralise 2 g de poisson en présence de 20 ml d'acide sulfurique (d = 1,83 et d'un catalyseur dont la composition est :

- sulfate de potassium cristallisé : 256 g
- sulfate mercurique 40 g
- Selenium en poudre 8 g

La distillation se fait après neutralisation avec 8 ml de soude (d = 1,33) et addition de 5 ml d'hyposulfite de sodium à 40 %. On titre ensuite par l'acide chlorhydrique 0,7143 N en présence d'acide borique (à 1 ml d'acide chlorhydriq correspond 10 mg d'azote).

2. Azote non protéïque.

Le principe est le même, le catalyseur ayant une composition différente :

- sulfate de potassium 100 g
- sulfate de fer 10 g
- sulfate de cuivre 5 g

3. Azote aminé.

a) Méthode de Sörensen (d'après J.F. Aldrin, Y. Briand et B. Verger)

A 50 ml de la dilution au 1/20 de la saumure ou à 25 ml du défécat, placés dans une fiole jaugée de 100 ml on ajoute 1 ml de phénol phtaléine à 0,5 %, 2 g de chlorure de Barym puis respectivement 5 ml et 8 ml d'une solution de baryte, saturée dans l'acool méthylique.

On ajuste à 100, on agite et on laisse au repos 30 mn. On filtre pui on prélève 2 fois 25 ml pour procéder à 2 titrages. On neutralise chaque prélèvement au moyen d'acide chlorhydrique N/10, en contrôlant au pHmètre ; puis on ajoute 10 ml de formol (neutralisé par de la soude jusqu'à obtention d'une couleur rose très légère). On titre ensuite avec une solution de soude N/10 jusqu'à obtention de pH 9. Soit n et n' les nombre de millilitres nécessaires pour les deux prélèvements, on a :

$$\frac{n + n'}{2} \times 2,24$$: mg d'azote aminé par millilitre de saumure

ou

$$\frac{n + n'}{2} \times 103$$: mg d'azote aminé pour 100 g de poisson frais.

b) Méthode de Folin-Ciocalteu (TP. de Biochimie ENSAIA 2è année M. Metche)

- Réactif de Folin Ciocalteu du commerce (Merck) dilué 3 fois.
- Gamme étalon : on amène à 20 ml, 0,5 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 ; 3 ml de la solution mère de tyrosine à 0,04 %, avec de l'acide chlorhydrique 0,2 N.
- Dosage : on amène à 20 ml avec l'acide chlorhydrique 0,2 N, 1 ml de défécat On prélève 5 ml que l'on mélange dans un erlen avec 10 ml de soude 0,5 N et 3 ml de réactif de Folin. On mesure la densité optique à 660 nm entre l'intervalle de temps suivant : 5 et 10 minutes.

./.

4. Azote volatil.

Dans la chambre centrale d'une cellule de Conway, on place 1 ml de la solution suivante contenant pour 1 litre :

- 10 g d'acide borique
- 200 ml d'alcool
- 700 ml d'eau
- 10 ml d'indicateur mélangé : vert de bromocrésol à 0,033 %
  + rouge de méthyl à 0,066 %

Dans la chambre externe on met 1 ml de défécat, 1,5 ml d'eau distillée, on cou partiellement à l'aide d'une plaque de verre rodée enduite de vaseline, puis on ajoute très rapidement 1 ml de solution saturée de carbonate de potassium. On ferme hermétiquement.
On incube les cellules, 1 heure à 40°C. Les bases volatiles libérées sont absorbées par l'acide borique que l'on titre ensuite avec de l'acide chlorhydr que N/50 à l'aide d'une micro-burette.
Pour le dosage des amines tertiaires volatiles, on bloque les amines primaires et secondaires par 0,5 ml de formol neutr a lisé.

II. Autres dosages.

1. Dosage des chlorures.

Il se fait sur environ 0,5 g de notre produit (soit p ce poids).
On précipite les ions chlorure à l'aide de 50 ml de nitrate d'argent. N/10, après on minéralise en présence de 20 ml d'une solution saturée de permenganat de potassium et de 20 ml d'acide nitrique (d : 1,38). On amène la solution après minéralisation à 150 ml, on filtre et on titre 50 ml du filtrat à l'aide d'une solution de sulfocyanure de potassium à 0,1 N en présence d'1 ml d'une solution saturée d'alun de fer et d'ammonium.

La teneur en chlorure de sodium pour 100 g de produit est :

$$\frac{(2\,n - 3\,a)\ 14{,}613}{n.p}$$

n : nombre de ml de sulfocyanure pour notre échantillon
a : nombre de ml de sulfocyanure pour 25 ml de nitrate d'argent 0,1 N

2. Dosage des graisses.

On extrait les graisses à l'éther pendant 8 heures. Le taux est calculé par pesée.

3. Dosage de l'eau.

On laisse environ 10 g de produit, pesés exactement, dans une capsule en nickel, 24 heures à l'étuve à 105°C.

B I B L I O G R A P H I E

(1) ALORIN (J.F.), BRIAND (Y.) et VERGER (B.), (1969) Etudes sur le Nuoc-nam de poissons de mer en Côte d'Ivoire Rev. Ele. Med. Vet. des pays Tropicaux; XXII, (2), p.p. 249-270.

(2) ALM (F.), (1965)
Scandinavian anchovies and tidbits. Fish as Food, ed. G. BORGSTROM, Academic Press, 3, p.195.

(3) ALTA ACARA, (1956)
Variation de la teneur en huile de l'anchois du chinchard et du maquereau en Mer Noire. Document Technique n° 23, Hydrobiological Institut Instanbul.

(4) ARBAULT (S.) et LACROIX (N.),(1971, 1974)
Reproduction de l'anchois - Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer, XXVII, 1971, p. 160 et XXIX, 1974.

(5) BOEZ (R.) et GUILLERM (I.), (1930)
Pouvoir protéolytique de la flore anaérobie de la saumure indo-chinoise (Nuoc-nam), C.R. de l'Acad. des Sc., Tome CIII, p. 1054.

(6) BRANDHORST (W.), ROJAS (O.) et SIMPSON (J.G.), (1966)
Sea sonal variations of the fat content, solids yield and condition factor of the anchoveta (Engraulis ringens, Jenyns) in Chile Fisheries Development Institute, Santiago de Chile (14/7/1966).

(7) BUTTIAUX (R.), BERRGENS (H.) et TACQUET (A.), (1974)
Manuel de Techniques Bactériologiques, 4ème éd., Flammarion éd., Paris, 700 p.

(8) CHEFTEL (H.), (1965)
The processing of the anchovy Engraulis encrasicholus L. Fish as Food, éd. G.Borgstrom, Academic Press, New-York 3 : 219.

(9) DEL VALLE (F.R.) et NICKERSON (J.T.R.), (1967)
Studies on sulting and drying fish. J. Fod.Sci. 1967, 32, p. 173

(10) DIEUZEIDE (R.) et NOVELLA (M.), (1942)
Essai sur la technique des salaisons de poissons
Documents et Renseignements Agricoles, Bull. n° 80 du Typo-Litho et J. Carbonel éd. - Alger, 216 p.

(11) F.A.O., (1971)
Rapport sur les pêches n° 100

(12) FRAGA (A.), (1955)
Variaciôn esta cional de la composition quimica de la anchoa (Engraulis encrasicholus). Investigacion pesquera 1955, 2, p. 2131.

..../

(13) GIBBONS (N.E.), (1937)
Fish Res. Bd. Prog. Rep. Atl. St., 55 pp 7-10
Analyse in Rev. Trav. Inst. Pêches Maritimes, Fas.2, 19, p.143.

(14) GUERAULT (D.), VINCENT (A.), et AVRILLA (J.L.)
Pêche de la Sardine et de l'Anchois sur les Côtes Atlantiques Françaises.
Conseil International pour l'Exploitation de la Mer
-vol. XXVIII, 1973, p. 195
-vol. XXIX, 1974, p. 156
-vol. XXX, 1975, p. 163

(15) GUILLERM (J.)
Explication scientifique d'un phénomène empirique, la production du Nuoc-nam. Extrait des Transactionq of the aigh Congress of the Far eartern Association of Tropical Medicine, I, p. 122-132.

(16) ISHIDA (Y.) et FUJII (I.), (1969)
Isolation of Halophilic ana Holotolerant Bacteria from Solar Salt. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish, 36, (4), 1970 pp.391-401.

(17) IVANOVA (S.I.), (1958)
The effect of storage temperature on the development of micro flora in preserves of Baltic Sprats, VNIRO, Vol. XXXV, 1958, pp.186-191.

(18) JONES (N.R.), (1966)
Fish Flavord. In Chemistry and Physiology of Flavors, ed. H.W. Schultz, E.A. Day and L. M LIBBEY, Avi Publisching Co., Conn. E.-U., p.167.

(19) METCHE (1972)
Travaux Pratiques de Biochimie - E.N.S.A.I.A. Nancy.

(20) PEREIRA GALVAO (L.A.) et ARESTA BRANCO
Contribution à l'Etude de l'Anchoitage
Institut Portugais de Conserves de Poisson.

(21) ROZIER (J.), (1969)
Mecanisme de la maturation du saucisson sec
Rec. Méd. Vet., 1969, 145, pp. 609-623.

(22) ROZIER (J.) et Mme DURAND (P.), (1969)
La Fabrication du saucisson sec - Rec. Méd. Vét.; 1969, 145, pp. 845-858.

(23) SAISITHI (P.), BUNG-ORN KASEMSARN, LISTON (A.) et DOLLA (A.M.), (1966)
Microbiology and Chemistry of fermented fish. J. Fd Sci., 31, p.105

(24) SOUDAN (F.), (1965)
La conservation par le froid des poissons, crustacés et mollusques, éd. Bailleres, PARIS.

.../

(25) Mme VEILLET
Cours de Bactériologie Alimentaire, E.N.S.A.I.A., Nancy.

(26) VIALARD-GOUDOU (A.), (1941)
Teneur en bases volatiles et en acides volatiles de la saumure Indochinoise (Nuoc-nam)
Rev. Méd. Franç. d'Extrême Orient, XIX, pp. 1061-1071

(27) VIALARD-GOUDOU (A.), (1942)
Etude chimique de la saumure indochinoise "Nuoc-nam". Rev. Méd. Franç. d'Extrême Orient, 1942, XX, pp. 960-963.

(28) VOSKRESENSKY (N.A.), (1965)
Salting of Herring. Fish as Food, ed. Borgstrom, Academic press, New-York, 3, p. 107

E R R A T U M

Lire VOKRESENSKY au lieu de VOKRENSKY

Lire VIALARD - GOUDOU au Lieu de VIALLARD - GOUDOU