

ACADEMIE DE MONTPELLIER

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC

T H E S E

présentée à l'université des Sciences et Techniques du Languedoc

pour obtenir le grade de

DOCTEUR INGENIEUR EN SCIENCES ALIMENTAIRES

OPTION B : BIOCHIMIE ET TECHNOLOGIE ALIMENTAIRES, NUTRITION

DECONGELATION INDUSTRIELLE DU POISSON

QUALITE HYGIENIQUE ET TECHNOLOGIE DES PRODUITS

par

Lucy HAN-CHING

Thèse soutenue le 6 février 1988 devant la Commission d'Examen

J.C. CHEFTEL **Président**

J.R. CREPEY

M. SAINCLIVIER

} **Assesseurs**

ACADEMIE DE MONTPELLIER

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC

T H E S E

présentée à l'université des Sciences et Techniques du Languedoc

pour obtenir le grade de

DOCTEUR INGENIEUR EN SCIENCES ALIMENTAIRES

OPTION B : BIOCHIMIE ET TECHNOLOGIE ALIMENTAIRES, NUTRITION

**DECONGELATION INDUSTRIELLE DU POISSON
QUALITE HYGIENIQUE ET TECHNOLOGIE DES PRODUITS**

par

Luçay **HAN - CHING**

Thèse soutenue le 6 Février 1980 devant la Commission d'Examen

J.C. CHEFTEL Président

J.R. CREPEY
M. SAINCLIVIER } Assesseurs

Je remercie Monsieur MAURIN, Directeur de l'Institut Scientifique et Technique des Pêches Maritimes, de m'avoir permis de passer cette thèse et le prie de croire à mes sentiments dévoués et respectueux.

Je prie Monsieur le Professeur CHEFTEL, qui m'a fait l'honneur de présider ce jury et qui a été mon professeur, d'accepter mes plus sincères remerciements, et j'exprime ici ma profonde reconnaissance pour son enseignement et pour ses nombreux conseils.

Que Monsieur CREPEY, Directeur de Recherches à l'I.S.T.P.M., veuille bien trouver ici l'expression de ma plus profonde gratitude pour le suivi constant de mon travail, son appui, ses encouragements et la formation dont il m'a fait bénéficier.

Je remercie Monsieur le Professeur SAINCLIVIER, membre du jury, d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail et le prie de croire à ma respectueuse reconnaissance.

A tous mes collègues de l'I.S.T.P.M. et particulièrement de la Technologie, qui m'ont aidé pour réaliser ce travail.

UNIVERSITE
DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DU LANGUEDOC

LISTE DES PROFESSEURS

AU 31-09-1979

Président : L. THALER

Vices-Présidents : MM. CORRIU, PIETRASANTA et NOUAZE.

Doyens Honoraires à l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc :

P. MATHIAS
B. CHARLES
A. CASADEVALL

Présidents Honoraires :

P. DUMONTET
J. ROUZAUD

Professeurs Honoraires de l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc :

- R. JACQUES	- Ch. BOUHET	- Ch. SAUVAGE
- M. CASTERAS	- J. SALVINIEN	- J.M. MORETTI
- E. TURRIERE	- M. MOUSSEFON	- G. COUCHET
- C. CAUQUIL	- P. CHATELAIN	- P. DEMANGEON
- G. DENIZOT	- A.M. VEPGNOUX	- J.P. ROIG
- J. GRANIER	- E. KAHANE	

Secrétaire Général :

E. SIAU

Professeurs titulaires :

- M. J. AVIAS Géologie
- M. JJ. MOREAU Mécanique rationnelle

- M.	B.	CHARLES	Mathématiques Pures
- M.	R.	JOUTY	Physique
- M.	R.	LEGENDRÉ	Zoologie
- M.	I.	ASSEMACHEF	Physiologie Animale
- M.	Ch.	ROUMIEU	Analyse supérieure
- M.	J.	ROBIN	Physique
- M.	B.	PISTOULET	Physique
- M.	A.	POTIER	Chimie Minérale
- M.	R.	LAFONT	Physique
- M.	F.	JACQUIER	Chimie
- M.	J.	FALGUEIRETTES	Minéralogie
- M.	J.	REGNIER	Chimie
- Mme	J.	CHARLES	Mathématiques
- M.	J.	ROUZAUD	Chimie
- M.	P.	CAILLON	Physique
- M.	H.	CHRISTOL (E.N.S.C.M.)	Chimie
- M.	H.	ANDRILLAT	Astronomie
- Mme	G.	VERNET	Biologie Animale
- M.	L.	CEVCHI	Physique
- M.	L.	EUZET	Zoologie
- M.	C.	DELOUPY	Physique
- M.	M.	MATTAUER	Géologie
- M.	M.	SAVELLI	Physique
- M.	R.	MARTY	Psychophysiologie
- M.	A.	BONNET	Botanique
- M.	G.	LANATY	Chimie
- Mme	S.	ROBIN	Physique
- M.	R.	CORRIU	Chimie
- Mme	N.	PARIS	Physiologie Végétale
- M.	J.	ZARZYCKI	Sciences des Matériaux
- M.	M.	MAURIN	Chimie Minérale
- M.	L.	THALER	Paléontologie
- M.	S.	GROB	Chimie Physique

- M.	JV.	ZANCHETTA	Chimie Générale
- M.	P.	SABATIER	Mathématiques
- M.	F.	SCHUE	Chimie Organique
- M.	E.	GROUBERT	Physique
- M.	Ch.	CASTAING	Mathématiques
- M.	M.	ROUZFYRE	Physique
- M.	F.	PROUST	Géologie
- M.	J.	PARIS	Biologie Animale
- M.	A.	GROTHENDIEK	Mathématiques
- M.	C.	DURANPE	Physique
- M.	G.	BOUGNOT	Physique
- M.	G.	LECOY	E.E.A.
- M.	R.	GAUFRES	Chimie
- M.	JD	BAYLE	Physiologie Animale
- M.	JL	IMBACH	Chimie
- M.	JP	FILLARD	E.E.A.
- M.	N.	ROBY	Mathématiques
- M.	Ph	JEANTEUR	Biochimie
- M.	M.	AMANIEU (I.S.I.)	Hydrologie et Mariculture
- M.	A.	COMMEYRAS	Chimie Organique

Professeurs sans Chaire :

- M.	G.	TOURNE	Chimie
- M.	J.	REMY	Géologie
- Mme	H.	GUASTALLA	Biologie Physico-Chimique
- M.	R.	LENEL	Biologie Animale
- M.	A.	BASSOMPIERRE	Physique
- M.	R.	JONARD	Botanique
- M.	R.	CANO (I.U.T.)	Mesures Physiques
- M.	P.	MOLINO	Mathématiques
- M.	J.	LEGRAND	Physiologie Animale
- M.	J.	D'AUZAC	Physiologie Végétale
- M.	G.	BOUIX	Zoologie

- M.	M.	DEMIZOT	Biologie Végétale
- M.	B.	BEUN	Chimie Physique
- M.	L.	GIRAL	Chimie Organique
- M.	JP	QUIGNARD	Zoologie
- M.	Ph	VIALLEFONT	Chimie
- M.	A.	RAIBAUT	Zoologie
- M.	P.	VITSE	Chimie Minérale
- M.	J.	GRIMAUD (E.N.S.C.M.)	Chimie
- M.	J.	GARCIA (I.U.T. NIMES)	Génie Mécanique
- M.	P.	LOUIS	Géophysique Appliquée
- M.	Cl	BOCQUILLON	Hydrologie
- M.	A.	DONNADIEU	Physique
- M.	M.	LEFRANC	Mathématiques
- M.	G.	MASCHEPPA	Chimie
- M.	C.	GOUT	Physique
- M.	JP	TRILLES (I.U.T.)	Biologie Appliquée
- M.	F.	HALLE	Biologie Végétale
- M.	G.	BORDURE (I.U.T.)	Génie électrique
- M.	JP	NOUGIER	Electronique
- M.	M.	GODRON	Ecologie Végétale
- M.	L.	LASSABATERE (I.U.T.)	E.E.A.
- M.	J.	LAPASSET (I.U.T.)	Physique Mesure Physique
- M.	M.	AVEFOUS (I.U.T.)	Physique Génie Electrique
- M.	G.	MAURY	Chimie
- M.	G.	LOUPIAS	Mathématiques
- M.	R.	BEN AIM (I.S.I.)	Génie chimique et Traitement des eaux
- M.	J.	CROUZET (I.S.I.)	Biochimie Appliquée
- M.	L.	COT (E.N.S.C.M.)	Chimie
- M.	Jc	CHEFTEL (I.S.I.)	Biochimie Appliquée à l'alimentation
- M.	P.	JOUANNA (I.U.T.)	Génie Civil
- M.	H.	MATHIEU (I.S.I.)	E.E.A.

Professeurs Associés :

- M.	M.	MICALI	Mathématiques
- M.	H.	BILGER	Physique
- M.	G.	AUBERSON	Mathématiques

Professeurs associés d'Université :

- M.	L.	DAUZIER	Physiologie Animale
- M.		GALZY	Biochimie
- M.	C.	MAURIN	Biologie Animale
- M.	R.	SENOUILLET	Economie et Gestion
- M.	E.	SEPVAT	Géologie
- M.	C.	VAGO	Biologie Animale
- Mme	M.	VAN CAMPO	Biologie Végétale
- M.	E.	VERDIER	Chimie
- M.	F.	WINTERNITZ	Chimie

Maîtres de Conférences :

- M.	R.	HAKIM	Mathématiques
- M.	F.	LAPSCHEF	Mathématiques
- M ^{le}	M.	LEVY (I.U.T.)	Chimie
- M.	J.	LAGARRIGUE (I.U.T.)	Biologie Appliquée
- M.	CL	DROGUE (I.S.I.)	Hydrogéologie
- M.	P.	GENESTE (E.N.S.C.M.)	Chimie Physique Appliquée
- M.	Y.	PIETRASANTA (E.N.S.C.M.)	Chimie Appliquée
- M.	B.	LEMAIRE (I.S.I.)	Mathématiques Appliquées Informatique
- M.	M.	VALADIER	Mathématiques
- M.	JL	ROBERT (I.U.T. NIMES)	Génie Electrique
- M.	O.	MAISONNEUVE	Mécanique
- M.	R.	BRUNEL	Physique
- M.	M.	CADENE	Physique
- M.	P.	DELORD	Physique
- M.	A.	PAVIA	Chimie

- M.	JM	BESSIERE	Chimie
- M.	JP	BARD	Géologie
- M.	P.	BESANCON (I.S.I.)	Physiologie de la nutrition appliquée à l'alimentation
- M.	Y.	NOUAZI	Mathématiques
- M.	J.	PETRISSANS	Chimie
- M.	JY	GAL	Chimie Analytique appliquée
- M.	C.	BENOIT	Physique
- M.	H.	GIBERT (I.S.I.)	Génie Alimentaire
- M.	A.	LIEGEOIS (I.S.I.)	Automatique
- M.	B.	TARODO DE LA FUENTE (I.S.I.)	Biochimie Appliquée et Techniques des Matières alimentaires
- M.	Y.	ESCOUFIER	Informatique
- M.	A.	SANS	Psychophysiologie
- M.	G.	DURAND	Chimie
- M.	B.	FILLIATRE (I.S.I.)	Informatique et Gestion
- M.	JJ	MACHEIX	Physiologie Végétale
- M.	P.	HINZELIN	Génie Civil
- M.	CL	BOKSENBAUM	Informatique
- M.	G.	CAMBON (I.S.I.)	E.E.A.
- M.	J.	FERRIE (I.S.I.)	Informatique
- M.	E.	AKUTOWICZ	Mathématiques
- M.	CH	HEBANT	Paléobotanique
- M.	J.	LANCELOT	Géophysique
- M.	D.	AUVERGNE (I.S.I.)	E.E.A.
- M.	B.	LEBLEU	Biochimie
- M.	C.	JOUANIN	Physique
- M.	M.	RIBES	Chimie
- M.	JP	ROQUE	Chimie
- M.	JL	AUBAGNAC	Chimie
- M.	CL	ALIBERT	E.E.A.
- Mlle	E.	ASTIER	Physiologie Animale
- M.	F.	ARTHAUD	Géologie
- M.	G.	ROYO	Chimie Organique - Mesures Physiques
- M.	PH	FOUCOU (I.U.T.)	Sciences Economiques

DECONGELATION INDUSTRIELLE DU POISSON
QUALITE HYGIENIQUE ET TECHNOLOGIE DES PRODUITS

	Pages
A) <u>INTRODUCTION</u>	1
I - FLORE BACTERIENNE DES PRODUITS DE LA MER	3
II - SURVIE DES BACTERIES AU FROID	10
III - MICROBIOLOGIE ET TECHNOLOGIE DE LA DECONGELATION - ORIENTATION DE NOS ESSAIS	13
B) <u>MATERIELS ET METHODES</u>	18
I - PRODUITS CHIMIQUES	13
II - MATIERES PREMIERES	19
III - DECONGELATION	20
1. Méthodes et appareils de décongélation	20
2. Mesures de température	22
IV - PRELEVEMENTS ET METHODES BACTERIOLOGIQUES	22
1. Prélèvements	22
2. Méthodes	23
a) Numération	24
b) Identification	24
V - METHODES STATISTIQUES	27
1. Sardines	27
2. Thons	29
C) <u>RESULTATS</u>	34
I - PLAN D'EXPERIENCE - ESSAIS PRELIMINAIRES ET TRAITEMENT STATISTIQUE	34
1. Plan d'expérience	34
a) Choix de la variable à étudier - Grandeur à mesurer et matériel d'étude	34
b) Recensement des facteurs susceptibles d'in- fluencer la grandeur à mesurer	36

2. Essais préliminaires et traitement statistique	39
a) Sardines	39
b) Thons	43
3. Conclusions	46
 II - DECONGELATIONS LENTES	 47
1. Plaques de sardines	47
a) Rappel des conditions	47
b) Air calme à +20°C	48
α) Evolution quantitative	48
β) Evolution qualitative	54
c) Air calme à +4°C	56
α) Evolution quantitative	56
β) Evolution qualitative	61
d) Comparaisons entre l'évolution à +20°C et celle à +4°C	63
α) Influence de la température de décongélation	63
β) Conséquences pour la décongélation du poisson	65
2. Décongélation du thon	69
a) Rappel des conditions	69
b) Décongélation et qualité bactériologique	69
c) Discussion	78
3. Conclusions	90
 III - DECONGELATIONS RAPIDES OU TRÈS RAPIDES	 92
1. Décongélation des plaques	93
a) Air pulsé humidifié	93
α) Conditions utilisées	93
β) Décongélation et évolution bactérienne	94
γ) Discussion	96
b) Eau	98
α) Conditions utilisées	90
β) Utilisation de l'eau pour une décongélation	91
γ) Utilisation de l'eau pour plusieurs décon- gélations	93
δ) Discussion	97

c) Autres méthodes	97
a) Vapeur sous vide	98
b) Hyperfréquences	100
d) Discussion	100
2. Décongélation des thons	102
a) Décongélation à l'eau	102
b) Décongélation à l'air pulsé humidifié	108
3. Conclusions	113
D) <u>DISCUSSION GENERALE</u>	115
E) <u>CONCLUSIONS GENERALES</u>	118
- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	120
- RESUME	135

A) INTRODUCTION

L'industrie française des produits de la mer utilise chaque année plus de 100 000 tonnes de produits congelés. D'après les statistiques de la F.I.C.U.R.* (1978), cette quantité s'élevait à 110 699 tonnes en 1977 et 102 363 tonnes en 1978.

Si dans certaines préparations le poisson peut être traité encore à l'état congelé, un réchauffage est nécessaire dans la plupart des cas. Or, particulièrement en ce qui concerne le traitement des produits de la pêche, la décongélation constitue l'étape de la chaîne du froid la plus négligée car, l'industrie improvise souvent en utilisant des méthodes non dirigées assez typiques, avec de l'air et de l'eau.

Il existe pourtant plusieurs appareils basés sur différents systèmes dont les conséquences sur les caractères organoleptiques, la structure et l'aspect des produits traités ont fait l'objet de diverses publications. Malheureusement, les informations sur l'aspect hygiénique sont peu nombreuses.

Compte-tenu des risques microbiologiques évidents que peuvent entraîner les décongélation non contrôlées s'effectuant souvent à même le sol, une réglementation est intervenue fixant les conditions de décongélation des denrées animales et d'origine animale (Arrêté ministériel paru J.O. du 31 juillet 1974).

L'article 20 du Titre IV de ce texte (Dispositions relatives à la décongélation des denrées) précise : "les méthodes de décongélation pourront faire l'objet d'arrêté du ministère de l'agriculture et, s'il s'agit de produits de la mer, du ministre de l'agriculture et ministre chargé des pêches maritimes. En absence de méthode autorisée, la décongélation des denrées animales ou d'origine animale doit être effectuée à l'abri des souillures, dans une enceinte à une température comprise entre 0°C et +4°C"

* Fédération Interprofessionnelle de la Congélation Ultra-Rapide.

L'Institut Scientifique et Technique des Pêches Maritimes, co-signataire de cet arrêté, par l'intermédiaire de la marine marchande, s'est naturellement attaché à l'aspect hygiénique de la qualité des produits marins décongelés.

Les résultats des expérimentations qui ont été faites, font l'objet de cette étude.

Sur le plan microbiologique, la décongélation peut avoir des conséquences sur le développement et le métabolisme des microorganismes du poisson qui ont survécu au froid. Aussi, nous décrirons en bref, dans cette introduction la flore bactérienne de la matière première, les conséquences des traitements au froid avant d'expliquer l'orientation prise pour mener nos essais compte-tenu de certains travaux publiés se rapportant au sujet.

I - FLORE BACTÉRIENNE DES PRODUITS DE LA MER

Plusieurs auteurs ont montré que le muscle, les organes internes et le sang du poisson sain et vivant sont stériles. (SHEWAN 1949; DYER, DYER et SNOW 1947; PROCTOR et NICKERSON 1935; GIBBONS et FRED 1930; HUNTER 1920).

Cependant, le mucus et les branchies sont pollués, ainsi que le tube digestif, du fait de leur contact direct ou indirect avec le milieu ambiant.

La mer étant un milieu biologique, entretient une flore microbienne permanente.

Quantitativement, les bactéries sont diversement distribuées dans l'eau : la répartition en profondeur a fait l'objet de multiples travaux (SCHMIDT-NIELSEN 1901; OTTO et NEUMANN 1904; BEFTEL 1912; DEEW 1912; FOYN et GRAN 1923; LLOYD 1930; ZOBELL et Mac EWEN 1935; KRISS et FOUKINE 1952).

En général, les bactéries sont présentes dans les premiers mètres superficiels, rares en profondeur, nombreuses à nouveau lorsqu'on se rapproche du fond, et souvent abondantes dans les boues. On a dénombré plusieurs milliers à plusieurs millions par cm^2 au fond de l'eau (DEEW 1912; SHEWAN 1944; ZOBELL 1942; LLOYD 1931).

Si la charge microbienne en surface est généralement assez peu élevée en pleine mer (quelques centaines par cm^3 au maximum), elle abonde lorsqu'on se rapproche des côtes (BRISOU 1955; SHEWAN et LISTON 1955; BUTTIAUX 1958).

Sur le plan qualitatif, les espèces microbiennes rencontrées normalement dans l'eau de mer sont surtout des bacilles gram négatif (94,6 % selon ZOBELL et UPHAM 1944), tout comme l'eau douce des lacs (95,5 % selon TAYLOR 1942).

En revanche, l'eau des fleuves, des rivières et des lacs peuvent être polluées par l'intermédiaire des rejets humains et animaux par la présence possible des bactéries pathogènes (bacille d'Eberth, salmonelles, shigelles, vibrion cholérique et Clostridium perfringens), alors que les microorganismes pathogènes d'origine terrestre non adaptés aux conditions de la vie maritime, ne sont présents qu'à titre transitoire, et ne se rencontrent qu'accidentellement en pleine mer (BRISOU 1955). Ainsi, en dehors des zones de transition (embouchure des fleuves et des estuaires par exemple), les entérobactéries rejetées en mer n'y survivent pas très longtemps (AUBERT 1965; AUBERT, AUBERT et GAMBARDOTTA 1968; BILLON 1976); en plus des facteurs physiques, leur mort rapide est aussi attribuée à la présence des microorganismes antagonistes, notamment des Bdellovibrios, dans les milieux aquatiques naturels (AUBERT et coll. 1968; MITCHELL 1971; ENZINGER et COOPER 1976; FOPFER et MARSHALL 1978).

N'y subsiste donc en général, qu'une flore permanente composée de bactéries spécifiquement marines, que l'on retrouve au niveau des produits de la mer (WOOD 1953; SHEWAN et HODGKISS 1957; HORSLEY 1973).

La flore bactérienne au niveau du mucus et de la peau du poisson fraîchement pêché peut être importante (de l'ordre de 10^2 à 10^7 microorganismes par cm^2 de peau) (SHEWAN 1949; LUCKE et SCHAFTZ 1937; LISTON 1955, 1956), de même qu'au niveau des branchies (de l'ordre de 10^3 à 10^6 microorganismes par gramme) (SHEWAN 1944; LISTON 1955, 1956). Qualitativement, la flore des branchies est semblable à celle du mucus (ASCHEHOUG et VESTERHUS 1943; LISTON 1957; HORSLEY 1973). Elle se compose en général, de façon permanente des genres Achromobacter, Pseudomonas et Flavobacterium, comme le montre le tableau I (SHEWAN 1961); le genre Micrococcus est presque toujours présent et Bacillus moins fréquent. On peut trouver également Vibrio et Corynebacterium. Tous ces microorganismes sont aérobies ou anaérobies facultatifs. Les anaérobies stricts sont absents ou rares (TANNER 1946; ASCHEHOUG et VESTERHUS 1943; CASTELL 1947; CASTELL et ANDERSON 1948). Quelques moisissures et levures sont signalées (DYER 1947).

TABLEAU I

Flore bactérienne aérobie de poisson frais exprimée en pourcentage du nombre total d'organismes isolés : d'après SHEWAN (1961)

Source and date	Species	Medium	Source of sample	Pseudomonas	Achromobacter	Corynebacteria	Flavobacter	Micrococci (incl. Sarcina)	Bacillus	Vibrio	Miscellaneous		
Reed and Spence (1929)	Canadian haddock	Fish, peptone, sea-water agar at 25° C.	Slime	22.0	23.0	—	8.0	4.0	24.6	—	18.0 (Proteus)		
			Intestines	9.7	4.4	—	5.6	1	5.7	—	70.0 (Proteus)		
Thjøttø and Somme (1938, 1943)	Norwegian cod	Fish-infusion broth + 2% agar.	Slime	5.0	48.0	—	23.0	14.0	—	—	8.0		
			Intestines	—	55.0	—	—	11.0	—	—	33.0		
Dyer (1947)	Canadian-Atlantic cod	Tap water at 20° C.	Slime	4.8	3.6	—	1.8	76.5	—	—	11.3 (Yeasts)		
			Intestines	5.0	3.7	—	8.6	65.0	—	—	14.8 (Others)		
Anderson (1947)	Canadian-Atlantic cod (Gadus morhua)	Sea water	Slime	41.5	31.3	—	33.4	10.0	0	—	7.1 (Proteus) 0.7 (Serratia)		
Pivnick (1949)	Canadian-Atlantic cod (Gadus morhua)	Sea water	(*) Slime	21.7	56.5	—	8.7	8.7	0	—	4.4		
			(b) Slime	6.9	43.8	—	43.1	1.4	0	—	2.6		
Fischer (1955)	Baltic cod	Fish agar at 22° C.	Intestines	9.3	65.0	—	4.7	17.0	—	—	3.0 (Serratia) 1.0 (Kurtzia)		
Georgala (1958a)	N. Sea cod	Sea-water agar at 20° C.	Slime	44.0	39.4	8.7	6.0	1.1	—	5.0	1.0		
		Sea-water agar at 0° C.	Slime	51.8	41.3	1.0	1.8	0.7	—	3.3	0.7		
Aschehoug and Vesterhus (1943)	Norwegian winter herring	Fish agar and nutrient agar at 22° C.	Slime	40.0	24.8	—	17.7	16.7	—	—	1.1		
			Gills	47.0	33.4	—	13.7	3.9	—	—	2.0		
			Intestines	24.1	72.5	—	—	3.4	—	—	—		
Liston (1957)	N. Sea skate	Sea water	Slime	63.0	8.6	3.4	10.2	—	—	—	0.4 (Alcaligenes) 6.4 (Others)		
			Tap water	Slime	22.3	38.3	3.1	4.3	—	—	4.2	17.5 (Alcaligenes) 11.3 (Others)	
		Sea water	Gills	89.5	13.7	4.0	11.2	—	—	—	—	6.9 (Alcaligenes) 4.6 (Others)	
			Tap water	Gills	24.7	30.6	2.9	5.3	—	—	7.0	21.2 (Alcaligenes) 7.1 (Others)	
		Sea water	Intestines	20.7	12.2	1.6	4.9	—	—	42.0	—	5.4 (Alcaligenes) 4.2 (Others)	
			Tap water (combined isolates at 20° and 0° C.)	Intestines	10.9	3.0	3.0	1.3	—	—	74.0	—	3.0 (Alcaligenes) 4.3 (Others)
			Tap water	Slime	57.0	16.7	—	9.5	—	—	—	—	9.5 (Alcaligenes) 7.3 (Others)
Liston (1957)	N. Sea brown sole	Tap water	Slime	29.2	36.9	1.4	9.1	—	—	5.3	23.3 (Alcaligenes) 10.6 (Others)		
			Sea water	Gills	62.9	14.5	—	11.1	—	—	1.1	10.0 (Alcaligenes) 1.1 (Others)	
		Tap water	Gills	31.6	31.5	1.2	3.5	—	—	9.4	16.5 (Alcaligenes) 5.8 (Others)		
			Salt water	Intestines	34.0	7.7	5.8	9.6	—	—	34.6	1.9 (Alcaligenes) 5.8 (Others)	
		Tap water (combined isolates at 20° and 0° C.)	Intestines	6.1	7.6	13.6	1.3	—	—	89.1	—	7.8 (Alcaligenes) 4.5 (Others)	
			Sea water	Slime	27.8	22.8	8.2	6.6	3.3	0	0	1.8	
		Georgala (1958b)	W. Coast S. African hake	Sea water at 20° C.	Slime	4.5	4.2	33.3	—	37.3	0	0	20.8
Sea water at 20° C.	Slime				4.5	4.2	33.3	—	37.3	0	0	20.8	
Wood (1953)	Australian spp. teleosts and elasmobranchs	Not stated	Slime	18.6	0	12.9	0	69.0	0.0	—	4.0		
			Slime	11.0	0	61.0	0	17.0	2.0	—	9.0		
Venkataraman and Sreenivasan (1955a)	Indian Shark (Carcharias sp.)	Sea water	Slime	6.0	6.6	28.5	2.6	22.5	23.7	2.9	2.9		
Venkataraman and Sreenivasan (1953)	Indian Mackerel	Sea water	Slime	5.2	32.3	—	—	5.8	52.6	—	—		
			Gills	—	—	—	—	14.3	85.8	—	—		
			Intestines	—	23.3	—	—	—	33.3	—	—	33.3	
			Whole fish	—	11.5	—	—	8.0	54.0	19.0	—	7.5	

La flore intestinale diminue rapidement lorsque le poisson ne se nourrit pas (YOSHIMIZU, KIMURA et SAKAI 1976). Le tube digestif devient même stérile à l'époque du frai (MAEGOLIS 1935; DYER 1947). En revanche, durant la période de nutrition, le tractus digestif recèle de nombreuses bactéries (de l'ordre de 10^3 à 10^7 selon SHEWAN 1942; LISTON 1956; YOSHIMIZU, KIMURA et SAKAI 1976 a). On y rencontre, en plus des genres qui composent de façon permanente la flore du mucus, une grande proportion de Vibrio (OKUZUMI et HORIE 1969; YOSHIMIZU, KIMURA et SAKAI 1976 a, b et c; GARCIA-TELLO et ZALESKI 1970; HAMID, SAKATA et KAKIMOTO 1978; LISTON 1957); Aeromonas est également signalé dans les travaux japonais. Les anaérobies stricts y sont souvent absentes (CASTELL 1947; GUELIN 1952), mais le genre Clostridium est parfois mis en évidence (SHEWAN 1942; PREVOT et HUET 1951; DOBROWSKY 1935). Chez les poissons pêchés dans les eaux polluées, E. coli est présent (BUTTIAUX 1968 ...), mais il survit peu en eau propre (GUELIN 1954, 1962; DUCLUZEAU 1969 ...). Entérobacter, souvent présent dans l'intestin de certains poissons vivant en eau douce, disparaît lors du transfert en eau de mer (HAMID, SAKATA et KAKIMOTO 1978).

Ainsi, comme le citait THATCHER (1971), le poisson entier vivant fraîchement pêché dans les eaux non polluées; ne contient que très rarement, sinon jamais, de bactéries pathogènes pour l'homme, autre que Clostridium botulinum, type E. Bien qu'il se rencontre assez souvent dans les boues des estuaires, une exception doit donc être faite pour C. botulinum type E, car il se répartit dans les eaux suivant une distribution géographique spéciale assez vaste dans les mers de l'hémisphère Nord (Mer Baltique, Japon, Grands lacs américains) (JOHANNSEN 1965; W.H.O./O.M.S. 1968).

Citons aussi le cas de Vibrio parahaemolyticus dans les eaux côtières du Japon, dont la présence en grand nombre dans les poissons crus ou légèrement cuits peut être à l'origine de dysenterie.

Lors de la conservation sous glace, même dans les meilleures conditions, le nombre de bactéries augmente jusqu'à atteindre des valeurs maxima d'environ 10^8 par gramme de muscle après 9 à 10 jours à 0°C, d'après SHEWAN (1961). Des chiffres de l'ordre de 10^{10} germes aérobies dans le muscle ont même été relevés (TARR 1943). Par contre, pour des poissons tropicaux, il semble que les valeurs maxima seraient plus faibles, même lorsque le poisson n'est plus consommable (DISNEY, COLE et JONES 1974; CANN 1974). Des variations qualitatives sont également observées : les bactéries Gram + présentes au début disparaissent progressivement ainsi que Flavobacterium, alors que les Pseudomonas et Achromobacter deviennent prédominants au cours de l'altération du muscle (WOOD 1940; VELANKAR et KAMASASTRI 1956; LERKE, ADAMS et FARBER 1963). Dans les derniers stades de la conservation, le genre Pseudomonas augmente comparativement jusqu'à représenter 90 % de la population bactérienne totale du cabillaud entreposé dans la glace (SHEWAN, HOBBS et HODGKISS 1960). CHAI, CHEN, ROSEN et LEVIN rapportent également que dans l'aiglefin réfrigéré à 1°C, Pseudomonas putrefaciens qui représente environ 1 % de la population bactérienne initiale atteint 30 % après 10 jours. La même remarque est soulignée par SHEWAN (1961) pour Pseudomonas fragi, qui passe de quelques % à 20-50 % après 12 à 15 jours sous glace.

Plus récemment, GARCIA-TELLO et ZALESKI (1970) remarquent dans l'intestin du cabillaud, une prédominance de Vibrio chez le poisson frais, et celle de Pseudomonas après 10 jours d'entreposage à 1-2 °C.

LEE et PFEIFFER (1975) mettent en évidence l'importance de Moraxella et Pseudomonas lors du stockage à l'état réfrigéré; BOSE (1969) observe une nette prédominance d'Achromobacter après entreposage sous glace des sardines et des crevettes.

En plus des enzymes tissulaires, plusieurs chercheurs ont alors montré et admis que la détérioration du muscle était en grande partie due à certains microorganismes appartenant aux genres Achromobacter et surtout Pseudomonas (SHEWAN 1962; SHEWAN, HOBBS et HODGKISS 1960; ADAMS, FARBER et LERKE 1964; LERKE, ADAMS et FARBER 1965;

HERBERT, HENDRICK, GIBSON et SHEWAN 1971; CASTELL et GREENOUGH 1957, 1959; CASTELL, GREENOUGH et JENKIN 1957; CASTELL, GREENOUGH et DALE 1959; HERBERT 1975; GILLESPIE et MACRAE 1975). Cependant, selon HORIE et coll. (1972), et FUJII et coll. (1977), les Vibrio sont également actifs dans la dégradation du poisson entreposé à basse température. Pour CASTELL et ANDERSON (1948), les Proteus sont aussi importants.

A côté de cette prolifération naturelle, interviennent les contaminations exogènes, dues aux manutentions et aux manipulations, dont les plus dangereuses, sont les blessures de la chair occasionnées par les gestes maladroits (PROCTOR et NICKERSON 1935) et le filetage manuel, qui prive le muscle de sa protection naturelle (SHEWAN 1949; TAFFR 1943; HAYWARD et Mac CALLUM 1969; GEORGALA 1957), favorisant ainsi l'ensemencement dans le muscle des microorganismes du mucus et de l'intestin.

Heureusement, les microorganismes apportés par l'homme interviennent peu dans l'altération du produit, car ils sont inhibés par le développement de la flore marine naturelle (SOUDAN 1977) et ils se développent mal aux températures habituelles de conservation du poisson (BILLON 1976).

Parallèlement à cette évolution microbienne, se poursuit dans le muscle, une altération irréversible due essentiellement à l'action des enzymes bactériennes. Pour leur grande part, les microorganismes sont responsables :

- de la formation de divers composés volatils, participant à la composition de l'odeur ou de la flaveur du poisson en cours d'altération, notamment le méthyl mercaptan, diméthyl sulfure, hydrogène sulfuré (HERBERT et SHEWAN 1975; MILLER III et coll. 1973 a, b et c)

- de la formation de composés aminés divers, dont certains sont toxiques comme la tyramine, tryptamine et surtout l'histamine (KIYATA et KAWAI 1951 a et b, 1952 a et b).

En conclusion, le poisson fraîchement pêché dans les eaux non polluées est sain et ne contient pratiquement jamais de bactéries pathogènes pour l'homme. Le seul risque réside dans la présence possible de C. botulinum type E, dans les poissons pêchés dans certaines régions.

En revanche, l'évolution bactérienne lors de la conservation peut être importante et entraîne une dégradation du muscle qui peut rendre le produit inconsommable et parfois toxique.

II - SURVIE DES BACTERIES AU FROID

Un abaissement de la température d'un substrat contenant une population microbienne conduit à une augmentation du temps de latence, suivie d'une diminution de la vitesse de croissance jusqu'à une température minimale où il n'y a plus multiplication. Ensuite, il y a lésion des bactéries entraînant une modification de la perméabilité cellulaire, ainsi que du métabolisme (ROSSET, MEZIANE et ROUSSEL-CIQUARD 1977; CHEFTEL, CHEFTEL et BESANCON 1977) ne permettant qu'un pourcentage plus ou moins grand de survivants.

La survie dépend d'une part de la matière première, (principalement du milieu et des caractères propres aux bactéries), d'autre part des traitements subis.

1. Influence des facteurs inhérents à la matière première avant congélation

a) Nature de la population microbienne

Tous les spécialistes reconnaissent la grande résistance des sporogènes au froid (HAINES 1938; FRAZIER 1958; RAJ et LISTON 1951; SHEWAN 1961; STFONG, WEISS et HIGGINS 1956).

Les moisissures survivent mieux que les bactéries (INGRAM 1951; CAMPELLO 1970).

Les anaérobies sont peu détruits (DOEBBLER et FINFRET 1963).

Les germes psychrophiles résistent mieux que les mésophiles (HESS 1934 a et b; STPAKA et STOCKES 1959; PAPRELL et POSE 1965; KATON 1969; AURELL, DAGBJARTSSON et SALOMON-SDOTTIR 1976). Aussi la flore banale du poisson survit en général assez bien. Parmi les genres rencontrés, Pseudomonas est assez sensible au froid (SHEWAN 1961; STEWART 1934), alors que les microcoques sont assez résistants (LUND et HALVORSON 1951; KISSE et BECKWITH 1942). Pour SOUDAN (1955), le pourcentage de survie diminue dans l'ordre : Micrococcus, Flavobactérium, Achromobacter, Pseudomonas.

En général, les bactéries Gram - seraient plus sensibles que les Gram +. Ainsi, parmi les germes indicateurs de pollution, les coliformes sont plutôt "fragiles" au froid (LARKIN, LITSKY et FULLER 1955; RAJ et LISTON 1961 c; DIGIROLAMO, LISTON et MATCHES 1970; LEKSHNY, CHOUDHURI et PILLAI 1969; ...) et peuvent même disparaître totalement après quelques mois d'entreposage à l'état congelé (LEKSHNY, CHOUDHURI et PILLAI 1969), alors que les streptocoques fécaux sont comparativement résistants (LARKIN, LITSKY et FULLER 1955, RAJ et LISTON 1961 c; LEKSHNY, CHOUDHURI et PILLAI 1969 ...).

Comme les autres bactéries, les pathogènes peuvent survivre au froid dans les produits de la mer : sont considérés comme sensibles, les salmonelles (LISTON, MATCHES et BAFOSS 1971; DIGIROLAMO, LISTON et MATCHES 1970), Vibrio parahaemolyticus (VANDEFZANT et NICKELSON 1972; CLARK 1977; VAN DEN EROEK et MOSSEL 1977; LISTON, MATCHES et BAFOSS 1971; JOHNSON, SALINGER et KING 1973; JOHNSON et LISTON 1973) et comme résistants, les staphylocoques (RAJ et LISTON 1961 c; HAPTSELL 1951; LISTON, MATCHES et BAFOSS 1971) et les Clostridia (RAJ et LISTON 1961 c; LISTON, MATCHES et BAFOSS 1971). En outre, les microorganismes pathogènes gardent leur pathogénicité (SPECK et RAY 1977) et les toxines élaborées éventuellement ne sont pas détruites et gardent leurs propriétés (SOUDAN 1965; CAMPELLO 1970). Ainsi, YAO, DENNY et BOHREK (1973) montrent que la toxine de Clostridium botulinum type E garde sa toxicité originelle à l'état congelé à -15°C, mais constatent qu'elle devient moins stable à la chaleur quand le temps d'entreposage augmente.

b) Influence du milieu

La mortalité est plus grande pour des pH élevés (HESS 1934 a; CAMPELLO 1970; SOUDAN 1955).

Les cellules bactériennes peuvent être protégées par la présence de cryoprotecteurs (CHEFTEL, CHEFTEL et BERSANCON 1977; REY 1959; ROSSET, MEZIANE et POUSSEL-CIQUARD 1974) notamment de composés colloïdaux (HESS 1934; FRAZIER 1958; RAJ et LISTON 1961; SQUIRES et HAPTSELL 1955; WOODBURN et STRONG 1960).

2. Influence des traitements au froid

a) Congélation

Les cellules bactériennes supportent mieux une congélation rapide qu'une congélation lente. Autrement dit, le nombre de micro-organismes détruits est plus élevé lorsque le temps d'arrêt thermique (passage de -1°C à -5°C) est plus long (HAINES 1938; WEISEF et OSTERUND 1945; MICHENER, THOMPSON et DIETFICH 1950; APPAI 1952 et 1954).

Plus récemment, AURELL, DAGBJARTSSON et SALOMON SDOTTIR (1975) montrent que la réduction bactérienne est plus importante dans le cas des congélations rapides par contact et en tunnel à -40°C que dans le cas d'une congélation très rapide au F12 pour la flore totale dénombrée à $+22^{\circ}\text{C}$. En revanche, l'importance de la réduction est la même dans les trois cas pour la flore mésophile dénombrée à $+37^{\circ}\text{C}$.

Des congélations-décongélations successives sont plus meurtrières qu'une seule congélation suivie d'un stockage à l'état congelé pendant le même temps (WEISEF et OSTERUND 1945; VIDAL 1955).

b) Entreposage

Au cours de l'entreposage, la destruction bactérienne continue, relativement vite au début et ensuite très lentement (HAINES 1938; HARTSELL 1951; ARPAT 1952; SHEWAN 1951).

Si un stockage est plus destructeur lorsque la température est élevée (aux environs de -5°C) (HAINES 1938; WEISEF et OSTERUND 1945), celle-ci n'est pas suffisante pour entraver la croissance des bactéries psychrophiles, capables de croître à températures négatives (STEWART 1934; VIDAL 1955; SHAW et SHEWAN 1958; KATO 1959).

III - MICROBIOLOGIE ET TECHNOLOGIE DE LA DÉCONGÉLATION - ORIENTATION DE NOS ESSAIS

Une proportion non négligeable des bactéries pouvant survivre au froid, les hygiénistes mettent en relief le danger que peut entraîner la décongélation pour la qualité du produit (GUILLOT 1969; BUTTIAUX 1973).

Cependant, les résultats sont controversés lorsqu'on compare la vitesse de détérioration du produit frais et du produit décongelé.

Pour SHEWAN (1961), l'altération du muscle ne devrait pas être plus rapide dans le poisson décongelé puisque la congélation détruit une partie des microorganismes. Ainsi, les expériences menées à la Torry Research Station sur la base des tests organoleptiques, bactériologiques et chimiques indiquent au contraire que l'altération serait moindre dans le cabillaud décongelé entreposé sous glace que dans le poisson frais. Ces résultats sont en accord avec ceux de PIVNICK (1949) et de LUIJPEN (1958) sur le poisson et de KALLEFT (1928) et SULZBACHER (1952) sur la viande.

ALMY et FIELD (1922), STEWART (1935), STILLE (1941), KITCHELL et INGRAM (1956), JOJKIEMICZ, ZALESKI et JAKU BOJSKA (1972), ZALESKI et coll. (1972) ne trouvent aucune différence dans la vitesse d'altération du produit frais et décongelé, malgré une baisse du nombre de bactéries au départ dans ce dernier cas.

D'après INGRAM (1952), la libération d'exsudat des tissus musculaires à la décongélation favorise la multiplication et DAVIS (1952) émet l'idée que les bactéries acquièrent leur "potentiel de croissance" pendant la durée à l'état congelé.

Pour HOROWITZ-VLASOVA et GRINBERG (1933), CHISTYAKOV et NOSKOVA (1955), le temps de génération peut être réduit considérablement dans le cas des microorganismes ayant été maintenus à basse température, car il y aurait une certaine "adaptation" au froid.

D'autres travaux encore font apparaître une altération plus rapide dans la chair décongelée (GRESSEL et GAFFE 1929; INUKAI 1976).

Toutefois, il ne fait aucun doute que l'altération du poisson décongelé est assez rapide, en grande partie due à l'activité des microorganismes qui ont survécu au froid. Aussi la décongélation doit-elle être contrôlée.

Industriellement, plusieurs appareils ont été mis au point et une revue pour les méthodes employées dans le cas du poisson a fait l'objet de publications diverses (MEFRITT 1959; CREPEY et MAILLIARD 1974; BURGESS, HEWITT et JASON 1975).

"Lors de la mise au point ou de la découverte de procédés de décongélation, les technologistes s'attachent naturellement à respecter les caractères organoleptiques, la structure, l'aspect du produit traité. Ils négligent souvent l'influence de la méthode sur sa qualité microbiologique du point de vue quantitatif et qualitatif".

Ce point de vue de BUTTIAUX (1973) reflète bien l'état actuel des publications en la matière pour les produits de la pêche : celles concernant l'influence de la décongélation ou de la méthode

- sur la qualité organoleptique (CREPEY et MAILLIARD 1974; CREPEY et BECEL 1973; KOZIMA et MURAJI 1977; EMBLIK 1977; HO-WING 1972; LEARSON 1974; CREPEY et MAIREY 1959; Mac CALLUM et IDLER 1959; ANONYME 1962; PISKAREV, KRYLOV et LUK'JANICA 1969; PETERS, Mac CALLUM, DYER, IDLER, SLAVIN, LANE, FRASER et LAISHLEY 1968; Mac CALLUM, CHALKER, DYER et IDLER 1967; SENO 1974; HANSEN 1959)

- ou sur la qualité chimique, physico-chimique et histologique (KOZIMA et MURAJI 1977; LEARSON 1974; Mac CALLUM et IDLER 1959; PETERS et coll. 1963; Mac CALLUM et coll. 1967; SENO 1974; HASEGAWA et coll. 1975; PIVNICK 1949; LUIJPEN 1958; INUKAI 1976; BITO 1973; PARTMANN 1972; KOZAKOWSKI, KOZAKOWSKA et RAKUS 1972; KOZAKOWSKI, FIK et KARMINSKA 1972; PODESZEWSKI, OTTO, STODOLNIK et SWINIARSKA 1972; ZALESKI et coll. 1972; CREPEY 1975; CREPEY, BECEL et HADJADJ 1975)

- ou sur l'aspect du produit traité (BOURY 1958; ANONYME 1962; PETERS et coll. 1968; Mac CALLUM et IDLER 1969; KOZIMA et MURAJI 1977; CREPEY et BECEL 1978; BITO 1975; HASEGAWA et coll. 1976; Mc DONALD, HEWITT, MAGNAVITA et SMITH 1972; SAWADA, WADA, HASEGAWA, FUJII, NAKAMURA et ISHIKAWA 1975; BITO 1970; BACON 1971)

sont relativement importantes. En revanche, il existe peu de publications relatives à la reprise multiplicative bactérienne lors des conditions de la décongélation dans les produits marins. Cependant, quelques auteurs, dans le cadre d'une étude plus vaste, ne font état que des conséquences de l'utilisation de certaines méthodes sur la qualité finale du produit :

- LEAPSON (1974) compare la décongélation des crevettes, crues et étêtées congelées en blocs de 2,25 kg, aux micro-ondes et à l'eau à 18°C. Il constate que la contamination à l'état congelé est semblable à celle de l'état décongelé aux micro-ondes dans un tunnel de 915 MHz, elle-même identique à l'échantillon réchauffé dans l'eau au bout de 2 heures (en utilisant 23 kg d'eau pour 4,5 kg de crevettes).

- HOUMING (1972) décongèle les mêmes produits dans une enceinte à vapeur d'eau sous vide (APV), dans l'eau et à l'air. Les dénombrements bactériens effectués à partir des prélèvements en surface et au centre des blocs révèlent les mêmes résultats à l'état congelé et à l'état décongelé dans le système APV en 2 heures. Les mêmes valeurs sont obtenues pour l'air au bout de 10 heures. Par contre, il obtient des nombres légèrement supérieurs pour l'eau.

- FACCACH et BAKER (1978) décongèlent de la chair de poisson séparée mécaniquement à l'air à +4,4°C, 10°C, 23°C et 38°C correspondant à des vitesses de décongélation de 1,2; 1,6; 5,0 et 12,5 °C/h respectivement. Ils ne trouvent aucune différence significative dans les dénombrements bactériens, obtenus par les différentes vitesses de décongélation, de chair de divers gadidés. Toutefois, ils ne mentionnent pas les temps de décongélation, ni les dimensions des produits.

- Mac CALLUM et MERRITT (1959) utilisent des blocs de cabillaud congelés en mer de 10 cm d'épaisseur (45 kgs) qu'ils décongèlent à l'air pulsé humidifié à +20°C et par immersion dans l'eau à +13°C (rapport Eau/poisson = 3 kg/ 1 kg), soit en 4 heures et demi dans les deux cas. Ils constatent que les dénombrements bactériens sont assez peu élevés, avec des valeurs légèrement supérieures pour l'air pulsé. De même, la mise en filets à terre qui fait suite permet d'obtenir des produits de bonne qualité, lorsque la décongélation à l'eau est correctement employée. Ces derniers résultats sont confirmés par HAYWARD et Mac CALLUM (1959), HAYWARD, Mac CALLUM et SHAW (1970), Mac CALLUM (1971).

- MITSUMURA (1969) suit l'évolution de la population bactérienne au cours de la décongélation de petits thons à température ambiante en été et sous glace. Dans les deux cas, les dénombrements varient peu par rapport à l'état congelé, puis augmentent rapidement lorsque le poisson est maintenu à l'état décongelé. Mais son étude, bien que remarquable, concerne surtout la contamination du poisson de façon plus générale au marché central de Tokyo. Aussi ne précise-t-il pas suffisamment la forme d'évolution de la population bactérienne. De même, l'étude de la partie décongélation demeure malheureusement restreinte à l'utilisation de la glace et de l'air ambiant.

Nous avons donc cherché à préciser la forme de l'évolution bactérienne au cours des diverses conditions de la décongélation du poisson, en nous attachant à vérifier l'existence d'un temps de latence, et dans l'affirmative, son importance en fonction des conditions utilisées. Cet aspect de l'étude nous permettra alors de déterminer les conséquences bactériologiques de l'emploi des principales méthodes, compte-tenu des durées de décongélation et de certains impératifs de la pratique industrielle.

L'orientation de nos essais découle des constatations suivantes :

1) Selon les travaux des auteurs précités, la différence est faible ou nulle entre la contamination des produits marins, à l'état congelé, et après décongélation par diverses méthodes (Mac CALLUM et MERRITT 1959; MITSUMURA 1969; HOUWING 1972; LEAFSON 1974;

RACCACH et BAKER 1973).

2) En outre, les modes opératoires employés par les microbiologistes avant de procéder aux prélèvements des échantillons congelés, sont différents.

- Ainsi, GUILLOT et LEBEFT (1966) mettent les échantillons en chambre froide à +4°C pendant six heures.

- CHEN et coll. (1976) maintiennent à température ambiante pendant deux heures.

- ANTONIOS et VOLFF (1970) utilisent une température comprise entre +1°C et +4°C en chambre froide pendant 15 à 16 heures, puis la température du laboratoire pendant 3 à 5 heures.

- RACCACH et BAKER (1978) soumettent le produit à 3 ± 1 °C pendant 18 heures.

- D'autres auteurs, au contraire, préconisent un réchauffage ultra-rapide aux micro-ondes (CATHCART 1946; GILB 1945).

Dans la plupart des cas la décongélation était incomplète et l'influence de la méthode utilisée sur les résultats bactériologiques considérée comme nulle.

Compte-tenu des buts fixés, notre étude sera donc axée sur la mesure de la précision de la méthode utilisée, et la détermination de l'évolution bactérienne dans le cas des décongélation lentes et dans le cas des décongélation plus rapides. Les conséquences pour l'industrie du traitement du poisson seront ensuite discutées.

Le réchauffage d'espèces de petite taille congelées individuellement ne présentant pas de difficultés particulières, notre étude n'a porté que sur des thons de différentes tailles atteignant jusqu'à 70 kgs.

B) MATERIELS ET METHODES

I - PRODUITS CHIMIQUES (utilisés pour les mesures bactériologiques)

1. Dilution

- Bacto-Tryptone - DIFCO
- NaCl - MERCK

2. Milieux de culture

a) Flore aérobie

- Bouillon nutritif - INSTITUT PASTEUR
- Universal Peptone - MERCK
- NaCl - MERCK
- Bacto-Agar - DIFCO

b) Flore psychrophile

Les produits utilisés sont les mêmes que pour la flore aérobie.

3. Identification

a) Hugh et Leifson

- Peptone de caséine - MERCK
- K_2PO_4 - MERCK
- Bleu de Bromothymol - MERCK
- Glucose stérile - INSTITUT PASTEUR

b) Recherche de l'oxydase

- Disques oxydase - INSTITUT PASTEUR

c) Mannitol mobilité

- Facto-Tryptone - MERCK
- Mannitol - MERCK
- KNO_3 - MERCK
- Fouge de phénol - MERCK

II - MATIERES PREMIERES

1. Sardines (Sardina pilchardus WALBAUM)

Le processus de préparation d'échantillons utilisé était le suivant : un lot de poissons de même qualité de fraîcheur fut congelé à $-40^{\circ}C$ au laboratoire, en plaques de 65 mm ou de 100 mm d'épaisseur, dans une armoire horizontale à contact, puis entreposé à $-20^{\circ}C$ entre 1 semaine et 10 semaines. La taille variait de 25 à 35 au kilogramme pour les petites sardines et 9 à 11 au kilogramme pour les grosses sardines.

Les essais furent effectués sur plusieurs lots différents en tenant compte des variations des conditions suivantes :

- Lieu de pêche (Atlantique, Méditerranée)
- Période de pêche (février à octobre)
- Temps de séjour sous glace (1 à 3 jours)
- Paroi ventrale (intacte ou lysée)
- Température d'entreposage ($-20^{\circ}C$ à $-30^{\circ}C$)
- Durée d'entreposage (1 semaine à 2 mois et demi).

2. Thons

Quatre lots de poissons congelés à bord furent utilisés (tableau II).

Les deux espèces concernées étaient :

- Listao : Euthynnus pelamis L.
- Albacore : Thunnus albacores B.

TABLEAU II

Caractéristiques des lots de thons capturés pour les essais

	A	B	C	D
Espèces	Listao	Albacore	Albacore	Albacore
Poids (environ) kg	3,700	3,700	20	40
Etat	Eviscéré	Eviscéré	Eviscéré	Entier
Durée d'entreposage à -20°C	1 mois	2 mois	2 mois	Inconnue
Origine	Pakistan	Açores	Açores	Afrique Occ.

III - DECONGELATION1. Méthodes et appareils de décongélation - Conditions utiliséesa) Air calme

La décongélation par convection naturelle est la méthode la plus souvent employée pour le poisson.

Les essais ont eu lieu dans des chambres isothermes de dimensions relativement petites (5x3x2,5m), équipées en chaud et froid ou en froid uniquement et réglables à $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ à un endroit donné de la pièce.

Les plaques à décongeler étaient disposées sur un support et les températures étaient réglées à $+4^{\circ}\text{C}$ et à $+20^{\circ}\text{C}$.

b) Air pulsé

L'appareil employé pour les essais comprenait principalement une enceinte de 2 m³ munie d'un chariot pouvant recevoir 200 à 300 kg de poissons. Elle était équipée d'un système chaud-froid-humidité avec circulation d'air forcée. La température de décongélation était réglable entre $+12^{\circ}\text{C}$ et $+25^{\circ}\text{C}$.

Conditions :

- Vitesse d'air : 2m/s
- Températures : $+12^{\circ}\text{C}$ et $+20^{\circ}\text{C}$
- Humidité relative : 100%

c) Eau courante

C'est une méthode rencontrée assez fréquemment pour les poissons entiers. On peut procéder par immersion ou par aspersion.

L'appareil utilisé au laboratoire est constitué d'un bac de décongélation rempli d'eau qui se déverse par trop plein dans un second bac où sa température est régulée. Le recyclage de l'eau se fait, après filtration grossière, à l'aide d'une pompe.

Conditions :

- Rapport eau/poisson : 4/1 (kg/kg)
- Températures : 15°C et 20°C
- Eau de ville.

d) Vapeur sous vide

La décongélation se fait grâce à la chaleur produite par condensation de la vapeur d'eau à la surface du produit congelé, dans une enceinte où un vide de 9 à 11 torr est maintenu.

L'appareil testé est une installation pilote APV-Torry de dimensions restreintes (1 m³ environ).

Conditions :

- Rapport eau/poisson : 4/1 (kg/kg)
- Vide : 9 à 11 torr
- Températures : 12°C et 20°C
- Eau de ville

e) Hyperfréquences (2450 MHz)

Grâce à un champ électrique alternatif de fréquence élevée auquel est soumis le produit, ce procédé entraîne une décongélation très rapide par production de chaleur au sein même de la masse à décongeler.

Nous avons travaillé avec une enceinte (0,5 m³) d'une puissance hyperfréquentielle de 5 KW, munie d'une sole tournante et équipée d'un système de refroidissement par pulvérisation d'un liquide cryogénique sous champ électrostatique.

Conditions :

- Durée d'exposition : 7 mn
- Potentiel électrostatique : 60 KV

2. Mesures de température

Elles sont obtenues sur un enregistreur potentiométrique (MECI), à l'aide de thermocouples cuivre-constantan très fins, fixés dans le produit. Pour les masses volumineuses, en raison de l'épaisseur, les fils de couple sont maintenus rigides, grâce à un tube fin et creux en PVC rempli de gélose, et dans lequel ils sont placés.

IV - PRELEVEMENTS ET METHODES BACTERIOLOGIQUES

1. Prélèvements

a) Sardines

Pour le prélèvement, sept sardines étaient mises sous sachet en polyéthylène. La prise d'essai se faisait aussitôt après en découpant stérilement pour chaque poisson la partie du corps située entre l'anus et la queue.

Pour déterminer la contamination à l'état congelé, le prélèvement s'effectuait entre 5 et 10 heures après décongélation partielle des plaques à +4°C.

b) Thons

Le prélèvement s'effectuait à l'aide d'un emporte-pièce stérile de 2,4 cm de diamètre, sur une épaisseur de 0,5 cm et en 3 points différents de la partie dorsale la plus volumineuse (fig.1).

Les échantillons ainsi découpés (3 par prélèvement) étaient réunis dans un même bol avant broyage.

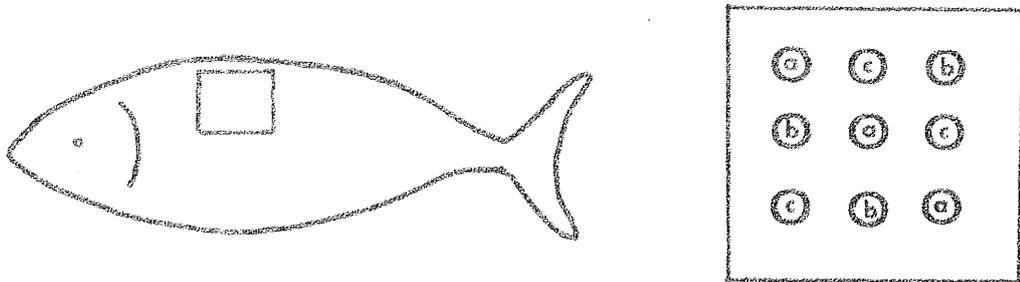


fig. 1 : lieux de prélèvements effectués sur le thon

Chaque prélèvement a, b ou c donne lieu à un découpage en 3 points différents du cadre fictif.

Pour les lots A, B et C, le prélèvement à l'état congelé était effectué sur l'une des faces du thon et à l'état décongelé sur l'autre face.

Chaque valeur obtenue correspondait à la moyenne de dénombrements effectués sur deux prélèvements.

2. Méthodes

Après addition d'une solution de tryptone-sel, la chair prélevée était broyée dans un bol WARING, durant une minute. La dilution de base obtenue était mise au repos 30 minutes pour les échantillons à l'état congelé.

La composition de la solution tryptone-sel était la suivante :

- Tryptone 1 g
- NaCl 8,5 g
- Eau distillée 1000 ml

Un millilitre des trois dilutions successives était ensemencé en profondeur, en coulant 12 ml de gélose. Pour chaque dilution, deux boîtes contenant 1 ml chacune étaient mises à incuber.

a) Numération

α) Flore aérobie

Le milieu utilisé est une gélose nutritive à l'eau de mer, de composition suivante :

- Bouillon nutritif déshydraté	16 g
- Universal Peptone	7 g
- Eau de mer vieillie	950 ml

Porter à ébullition - Filtrer, puis ajouter :

- Agar	15 g
- Eau distillée	140 ml

pH final : 7,5 - Stériliser 20 mn à 120°C

L'incubation des boîtes de Petri se faisait à +20°C pendant 120 heures.

β) Flore psychrophile

La gélose nutritive à l'eau de mer était également utilisée, mais l'incubation était faite à +4°C pendant trois semaines.

b) Identification des colonies

Les boîtes contenant environ 50 colonies (flore aérobie) étaient utilisées pour l'identification. La purification se faisait par étalement sur gélose de ZOBELL, même pour les colonies situées dans la gélose, puisque toutes celles qu'on avait isolées, pouvaient pousser en aérobiose. Deux à trois repiquages étaient dans certains cas nécessaires.

α) Les souches isolées étaient ensuite caractérisées au niveau des genres ou groupe de genres en utilisant la méthode de GILMOUR et coll. (1975), inspirée du schéma de SHEWAN et coll. (1950 a et b) et de HENDFIE et coll. (1954), suivant le plan d'identification de la page suivante. (figure 2)

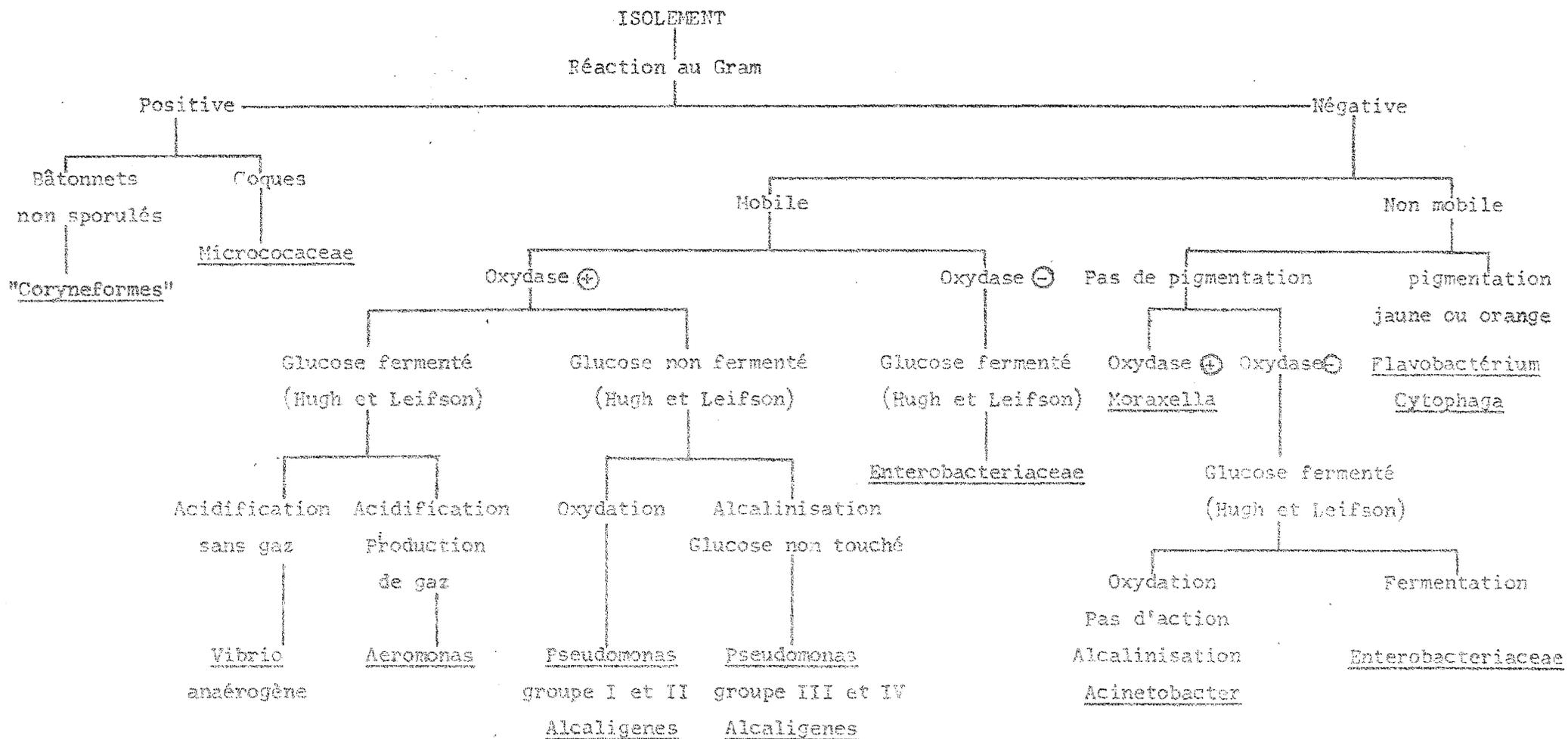


fig. 2 Plan utilisé pour l'identification des souches

(3) Les tests et méthodes étaient les suivants :

* A partir des cultures purifiées obtenues sur gélose de ZOBELL, après 5 jours d'incubation à +20°C, on relevait :

- les caractères morphologiques, l'apparence et la pigmentation des colonies
- la réaction au Gram et les caractères morphologiques des cellules
- la présence de cytochrome-oxydase (sur disques oxydase) : un disque "Ox" est déposé sur une lame; après légère humidification du disque, on étale une partie de la colonie d'une souche prélevée à l'aide de l'öse bouclée. La coloration violette est presque immédiate.

* A partir des cultures obtenues sur milieu de ZOBELL liquide, après 24 à 48 heures d'incubation à +20°C, on observait :

- la mobilité éventuelle des cellules, basée sur le mouvement observé au microscope et dans l'utilisation des tubes de Mannitol-mobilité, de composition suivante :

- Peptone pancratique	20 g/l
- Gélose	5 g/l
- Mannitol	10 g/l
- KNO_3	1 g/l
- Poudre de phénol 1%	2,5 ml
- Eau distillée	1000 ml

pH final : 7,2

Le milieu utilisé a été additionné de 1,5% de NaCl.

- l'utilisation du glucose avec le milieu Hugh et Leifson

Composition de base :

- Trypticase	2 g/l
- NaCl	5 g/l
- K_2HPO_4	0,3 g/l
- Agar	3 g/l
- Bleu de Bromothymol	0,03 g
- Eau distillée	1000 ml

pH final : 7,2

Le milieu utilisé a été additionné de 1,5% de NaCl.

Deux tubes étaient inoculés par piqûre centrale, dont l'un était incubé sous paraffine liquide stérile. Ce milieu était utilisé pour observer la forme d'utilisation du glucose (à la concentration de 1%), la production éventuelle d'acides et de gaz. Les résultats étaient lus après 2 jours, 7 jours et 14 jours.

Tous les milieux étaient incubés à +20°C.

V - METHODES STATISTIQUES

Elles ont été choisies en s'inspirant des ouvrages de L'HEFETIER (1949), de GEMY et SALMON (1969) et de VIALLET (1970).

1. Sardines

Les méthodes utilisées étaient appliquées après transformation en log. décimal des dénombrements et vérification de la distribution normale.

a) Test de Kolmogoroff-Smirnoff

En présence d'une distribution observée, on calcule les fréquences cumulées à partir des effectifs cumulés d'une part, et les valeurs t_i de la variable réduite correspondant aux extrémités des classes de valeurs, d'autre part.

Le tableau de calcul se présente ainsi : (exemple pour cinq classes de valeur)

Classes	n_i	n_i cumulé	$\frac{f_i \text{ cumulé}}{n_i \text{ cumulé}}$ = $\frac{f_i}{N}$	t_i
x_1	n_1	n_1	f_1	$\frac{x_2 - m}{\sigma}$ =
x_2	n_2	⋮	⋮	⋮
x_3	⋮	⋮	⋮	⋮
x_5	n_5	N	100%	$\frac{x_5 - m}{\sigma}$ =

σ = écart-type

m = moyenne

On porte enfin sur le graphique, établi par ces auteurs, les points de coordonnées : t_i, f_i cumulé (§ exemple p.11 fig. 4).

Dans le cas où la distribution est celle d'un échantillon tiré d'une loi normale, les points se trouvent à l'intérieur de plages délimitées par des courbes (relatives à des échantillons de taille $N=20, N=50$ et $N=100$ pour un risque choisi à 5%).

b) Analyse de variance à deux dimensions

Soit à tester l'influence de deux facteurs A et B.

On adopte un plan expérimental, qui se traduit par le tableau III suivant qui comporte v colonnes et s lignes.

TABLEAU III

Plan d'expérience pour tester l'influence simultanée de deux facteurs A et B

		MODALITES DU FACTEUR A					
		A_1	...	A_i	...	A_r	MOYENNES
MODALITES DU FACTEUR B	B_1	x_{11}		x_{i1}		x_{r1}	$x_{.1}$

	B_j	x_{1j}		x_{ij}		x_{rj}	$x_{.j}$

	B_s	x_{1s}		x_{is}		x_{rs}	$x_{.s}$

Moyennes	$x_{1.}$...	$x_{i.}$...	$x_{r.}$	Moy. générale : $x_{...}$	

On calcule la variance estimée :

- due au facteur A : $V_A = \frac{s \sum (x_{i.} - x_{..})^2}{r - 1}$ avec un

degré de liberté $V_A = r - 1$.

- due au facteur B : $V_B = \frac{r \sum (x_{.j} - x_{..})^2}{s - 1}$ avec un

degré de liberté $V_B = s - 1$

- résiduelle : $V_R = \frac{\sum (x_{ij} - x_{i.} - x_{.j} + x_{..})^2}{(r - 1)(s - 1)}$ avec

un degré de liberté $V_R = (r - 1)(s - 1)$.

On forme alors les rapports des variances F

$$F = \frac{V_A}{V_R} (V_A; V_R) \quad \text{et} \quad F = \frac{V_B}{V_R} (V_B; V_R)$$

qu'on place sur la loi de SNEDECOR pour conclure au risque choisi (table des valeurs de F ayant la probabilité d'être dépassées pour différents degrés V_1 et V_2).

Si $F < F_{\alpha}$ l'influence est considérée comme non significative.

2. Thons

L'analyse statistique était appliquée également après transformation en log. décimal des dénombrements, et après arrondissement des valeurs.

a) Cas des échantillons non appariés

a) Test non paramétrique MANN et WHITNEY

Soit deux échantillons A et B d'effectifs n_A et n_B dans lesquels on a obtenu des valeurs x_i . On établit le tableau de la page suivante.

	x_i	x_1	x_2	x_3	$x_4 \dots x_7$	
A	n_{iA}	0	1	0	0	1
B	n_{iB}	1	0	2	0	1
A + B		1	1	2	0	2
rang :	r_i	1	2	3,5	...	

Dans la réunion (A + B) des deux échantillons, on considère le rang r_i des différentes notes.

On fait alors pour chaque groupe, la somme des rangs des sujets qui le composent, c'est à dire :

pour le groupe A, on a $T_A = \sum n_{iA} r_i$

pour le groupe B, on a $T_B = \sum n_{iB} r_i$

On calcule :

$$U_A = n_A n_B + \frac{n_A (n_A + 1)}{2} - T_A$$

$$U_B = n_A n_B + \frac{n_B (n_B + 1)}{2} - T_B$$

et $m_u = \frac{n_A n_B}{2}$

On compare alors la plus petite des deux quantités U_A et U_B à des valeurs seuils U_S , lues à l'intersection de $m - n$ et de n dans les tables (valeurs de U telles que $P_r \{ U_A \text{ ou } U_B \leq U \} = 0,05$),

m : étant le plus grand des deux effectifs n_A et n_B

n : étant le plus petit des deux effectifs n_A et n_B .

Pour un risque de 5% :

- si U_A (ou U_B) est compris entre m_u et $U_{0,05}$

$(U_{0,05} \leq U_A \leq U_{0,05})$: on peut considérer que les deux échantillons ne sont pas différents.

- si U_A (ou U_B) est égal ou inférieur à $U_{0,05}$, ($U_A < U_{0,05}$): les deux échantillons sont différents pour ce risque.

(3) Comparaison de moyennes

Soient deux échantillons définis par les caractéristiques suivantes :

$$(N_1, m_1, \sigma_1^{*2}) \text{ et } (N_2, m_2, \sigma_2^{*2})$$

N : effectif

m : moyenne

$$\sigma^{*2} : \text{variance estimée} = \frac{\sum_{i=1}^{i=N} (x_i - m)^2}{N - 1}$$

On calcule la quantité : $t = \frac{m_1 - m_2}{\sigma \sqrt{\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}}}$ où

$$\sigma^{*2} = \frac{\sum_1^{N_1} (x_i - m_1)^2 + \sum_1^{N_2} (x_i - m_2)^2}{N_1 + N_2 - 2}$$

- Test de F :

On calcule le rapport : $F' = \frac{\sigma_1^{*2}}{\sigma_2^{*2}}$ de la plus grande estimation de variance à la plus petite, et on le place sur la loi de SNEDECOR par rapport aux seuils de signification (table des valeurs de F ayant la probabilité α d'être dépassées pour différents degrés de liberté ν_1 et ν_2).

si $F < F_\alpha$ (pour $\alpha = 5\%$), la différence observée sur les variances n'est pas significative.

- Test de STUDENT

Si les variances sont homogènes, la quantité t suit la loi de STUDENT-FISCHER à $N_1 + N_2 - 2$ degrés de liberté.

$t > t_\alpha$ ($\alpha = 5\%$) : les moyennes sont significativement différentes.

- Test de DARMOIS

Si les variances sont inégales, la valeur calculée de t est comparée à la valeur K lue dans la table, établie pour le test de DARMOIS.

$t > R$: La différence des moyennes sera considérée comme significative.

b) Cas des échantillons appariés

où les mêmes individus figurent dans les deux échantillons.

α) Tests non paramétriques

- Test des signes

Ce test ne tient compte que du signe des différences.

On fait l'hypothèse que les deux échantillons sont tirés de la même population, ce qui revient à dire, que les différences ont autant de chances d'être positives que négatives.

Une conséquence de cette hypothèse est que le nombre k de différences positives (ou négatives) suit la loi binomiale définie par les paramètres : n (nombre total de différences), $\tilde{\omega} = \frac{1}{2}$ (proportion).

S'étant fixé un risque de α , il lui correspond une valeur k_g ; et on compare k effectivement observé à k_g pour conclure (table de probabilités cumulées des valeurs inférieures ou égales à k pour différentes valeurs de n et pour $\tilde{\omega} = 0,5$).

- Test de WILCOXON

Soient N individus auxquels on a fait subir un même traitement et on a mesuré la valeur de chacun avant et après le traitement.

On obtient N différences de valeurs qu'on classe par ordre croissant de valeur absolue, comme par exemple :

différence	0	-0,6	+0,8	-2	+2	+2,7 ...
rang		1	2		3,5	4 ...

Après avoir laissé de côté les différences nulles, on attribue, à chaque différence ainsi classée, un rang.

Hypothèse : Le traitement n'entraîne pas de modifications au niveau des individus.

On fait la somme des rangs :

- des différences positives : $T_+ = 2 + 3,5 + 4 + \dots$
- et - des différences négatives : $T_- = 1 + 3,5 + \dots$

On considère la plus petite des deux sommes T_+ et T_- qu'on compare à la valeur tabulée t du Test de WILCOXON (tableau de valeurs de t telles que $P_r \{ T \leq t \} = p$).

Si $T \leq t$ pour $p=0,05$, on rejette l'hypothèse.

B) Test paramétrique de comparaison de deux séries appariées

On fait l'hypothèse que les deux séries sont issues de la même population, et la moyenne des différences : $m_d = m_1 - m_2$ suit une loi normale de moyenne 0 et d'écart-type : $\frac{\sigma_d}{N}$.

La quantité $t = \frac{m_d}{\frac{\sigma_d}{\sqrt{N}}}$ suit donc une loi de STUDENT-FISCHER à

$\nu = N-1$ degrés de liberté.

On calcule alors t' effectivement observé qu'on compare ensuite à t_α (table de distribution de t de la loi de STUDENT pour $\alpha = 5\%$).

Si $|t'| > t_\alpha$, on rejette l'hypothèse.

C) RESULTATS

L'étude a été divisée en trois parties :

- la première : est consacrée aux essais préliminaires indispensables notamment pour déterminer la méthode d'étude à mettre en oeuvre et le traitement statistique à réaliser.

Sont regroupés ensuite :

- dans la seconde partie : les résultats obtenus dans le cas des décongélations lentes,

- dans la troisième : ceux obtenus lors des décongélations rapides ou très rapides.

Les qualificatifs "lentes", "rapides" ou "très rapides" sont arbitraires et tiennent compte de la durée approximative nécessaire pour amener une plaque de produit de 65 mm d'épaisseur de -20°C à 0°C.

I - PLAN D'EXPERIENCE - ESSAIS PRELIMINAIRES ET TRAITEMENT STATISTIQUE

1. Plan d'expérience

a) Choix de la variable à étudier - Grandeur à mesurer et matériel d'étude

Notre étude concerne principalement la décongélation industrielle du poisson. Elle est, sur le plan microbiologique, une étape transitoire de la transformation et influence de ce fait en partie l'évolution de la population bactérienne au cours des stades qui se succèdent avant la stérilisation ou la stabilisation. Ainsi, le critère du choix de la variable tient compte de l'évolution des bactéries marines au cours de la décongélation, mais aussi pendant la période qui la suit.

Comme nous l'avons montré dans la partie bibliographique les bactéries se trouvant dans le mucus sont essentiellement des aérobies ou des aérobies anaérobies facultatifs. La grandeur à mesurer, compte-tenu de la représentativité, de la précision et de l'intensité des liaisons, se limite donc essentiellement au dénombrement de la flore aérobie dans le muscle (chair + peau) et dans certains cas à celui de la flore psychrophile.

En ce qui concerne le matériel servant de base à l'étude, nous avons choisi la sardine pour les motifs suivants :

- Elle représente une espèce de plus en plus utilisée à l'état congelé sur le plan industriel : de 1972 à 1977, la proportion de poisson congelé traité en France pour les besoins de la fabrication des conserves de sardine, est passée de 50 à 70 %. En raison des conditions actuelles de la pêche, tout laisse supposer que cette tendance se maintiendra.

- La décongélation sous forme de plaques est délicate à réaliser, à cause de la fragilité des tissus et de la difficulté de l'éviscération lorsque la fonte des cristaux n'est pas complète.

- Il existe des différences importantes dans la contamination individuelle des poissons. Pour restreindre l'ampleur de cette variance, chaque prélèvement a été opéré sur 7 sardines environ, d'où l'intérêt de travailler sur les espèces de petite taille.

- En outre, lorsqu'on travaille sur des blocs parallélépipédiques, la morphologie de la masse à décongeler favorise une étude de ce type; en effet, la configuration en bloc de 65 mm (largement répandue à bord des bateaux ou à terre) a permis de suivre l'évolution bactérienne en surface d'une masse notable par le prélèvement de sardines se situant à la périphérie des plaques.

Nous nous sommes également intéressés à la décongélation du thon, à cause de la taille qu'il peut atteindre, ce qui représente un cas particulier dans l'industrie du poisson à vocation alimentaire.

b) Recensement des facteurs susceptibles d'influencer la grandeur à mesurer

a) Facteurs inhérents à la matière première à décongeler

- Facteurs intervenus avant la décongélation
 - . Avant congélation
 - * Lieu de pêche
 - * Période de campagne de pêche
 - * Temps de séjour sous glace
 - * Autres conditions
 - . Après congélation (par contact à -40°C)
 - * Temps d'entreposage à l'état congelé
 - * Température d'entreposage à l'état congelé
- Facteurs intrinsèques
 - * Concentration bactérienne
 - * Composition et équilibre de la flore bactérienne
 - * Etat des tissus (observation de la paroi ventrale)

(3) Facteurs inhérents aux conditions opératoires

- Méthodes de décongélation
 - * Air calme
 - * Air pulsé
 - * Eau
 - * Vapeur d'eau sous vide
 - * Micro-ondes
- Méthode d'échantillonnage
 - * Homogénéité du lot (pêche)
 - * Prise d'essai à la surface des plaques
 - * 7 sardines par prélèvement
- Méthode de prélèvement
 - * Queue de la sardine
 - * Broyage de la prise d'essai

- Méthode d'ensemencement
 - * En profondeur
 - * Deux boîtes par dilution

En plus de ces facteurs recensés, il existe des facteurs non identifiés. Si l'on tente de faire un classement sur le plan statistique, ceux-ci engloberaient la part des facteurs identifiés qu'on ne peut pas fixer et le hasard. Parmi les facteurs identifiés, on peut distinguer :

- les facteurs chiffrés et maîtrisés ICX
- les facteurs chiffrés et non-maîtrisés ICX/
- les facteurs non chiffrés et maîtrisés ICX/
- les facteurs non chiffrés et non-maîtrisés ICX/

A partir de ce type de classification, les facteurs recensés peuvent se répartir de la façon suivante (tableau IV).

Les facteurs intervenant dans les méthodes d'échantillonnage, de prélèvement et d'ensemencement peuvent être fixés par le mode opératoire.

Nous nous proposons donc de suivre l'évolution bactérienne lors de l'utilisation des principales méthodes de décongélation; celles-ci seront classées en deux cas :

- Cas des décongélations lentes (air calme à +4°C et à +20°C) : où l'on fera intervenir les facteurs inhérents à la matière première à décongeler

- Cas des décongélations plus rapides (eau, vapeur d'eau sous vide, air pulsé humidifié et micro-ondes) : où certaines conditions, propres à la méthode et susceptibles de faire varier la grandeur à mesurer, seront étudiées.

TABLEAU IV

Répartition des facteurs recensés et identifiés qui peuvent être chiffrés (C)
ou non (C) et maîtrisés (M) ou non (M)

	ICM	ICM	ICM	ICM
Facteurs inhérents à la matière première	temps à l'état congelé température à l'état congelé période de pêche	concentration bactérienne état des tissus temps de séjour sous glace	lieu de pêche	multiples conditions avant congélation composition et équilibre de la flore bactérienne
Facteurs inhérents aux conditions opératoires			méthode de décongélation • air calme • air pulsé • eau • vapeur d'eau sous vide • hyperfréquences	
	homogénéité du lot congélation en plaques 7 sardines/prélèvement 2 boîtes/dilution		prise d'essai en surface des plaques queue de la sardine broyage en profondeur	

2. Essais préliminaires et traitement statistique

a) Sardine

La méthode d'étude utilisée suppose que le lot de sardines soit suffisamment homogène dans les résultats obtenus par ce type de prélèvement. Les essais préliminaires sont donc nécessaires pour tester l'homogénéité du lot et connaître la précision de la grandeur mesurée et la méthode de traitement des résultats.

Un lot de sardines en provenance de Méditerranée a donc été congelé sous forme de 11 plaques de 5 kg chacune. Après congélation et entreposage d'une semaine à -20°C , une plaque était soumise à la température de $+4^{\circ}\text{C}$ en air calme tous les 2 ou 3 jours. Après décongélation partielle en surface qui demande environ 5 heures, deux prélèvements de 7 sardines furent effectués par intervalle de 30 minutes.

Après ensemencement et incubation, le dénombrement des colonies des boîtes contenant 30 à 300 colonies représentait alors les résultats de l'état de contamination à l'état congelé.

Les valeurs obtenues sur les plaques entreposées entre une semaine et un mois à -20°C sont classées dans le tableau de la page suivante. (Tableau V)

La figure 3 montre que les valeurs après transformation en log. décimal se distribuent normalement. La confirmation est obtenue avec le test de Kolmogoroff-Smirnoff (figure 4) pour un risque de 5 %. (§ pages 41).

- Homogénéité du lot :

Pour déterminer la part des sources de variation dans les résultats, l'analyse de variance est appliquée en tenant compte des valeurs transformées en log. décimal du tableau V.

TABLEAU V Valeurs des prélèvements effectués sur des plaques de sardines congelées issues d'un même lot

Plaque n°	Prélèvement	Moyenne de 2 ensemencements	Log ₁₀ N colonies/g	Moyenne des valeurs de la même plaque log ₁₀ N colonies /g
1	1	205 x 10 ³	5,312	5,232
	2	142	5,152	
2	3	122,5	5,038	5,065
	4	110,5	5,043	
3	5	66	4,819	4,967
	6	130	5,115	
4	7	150	5,176	5,1505
	8	133	5,125	
5	9	131	5,116	5,1005
	10	122	5,085	
6	11	181	5,258	5,1545
	12	112,5	5,051	
7	13	87	4,94	5,055
	14	148	5,17	
8	15	157	5,196	5,134
	16	118	5,072	
9	17	177	5,249	5,3105
	18	235,5	5,372	
10	19	174,5	5,242	5,216
	20	155	5,190	
11	21	105,5	5,023	5,1425
	22	183	5,262	

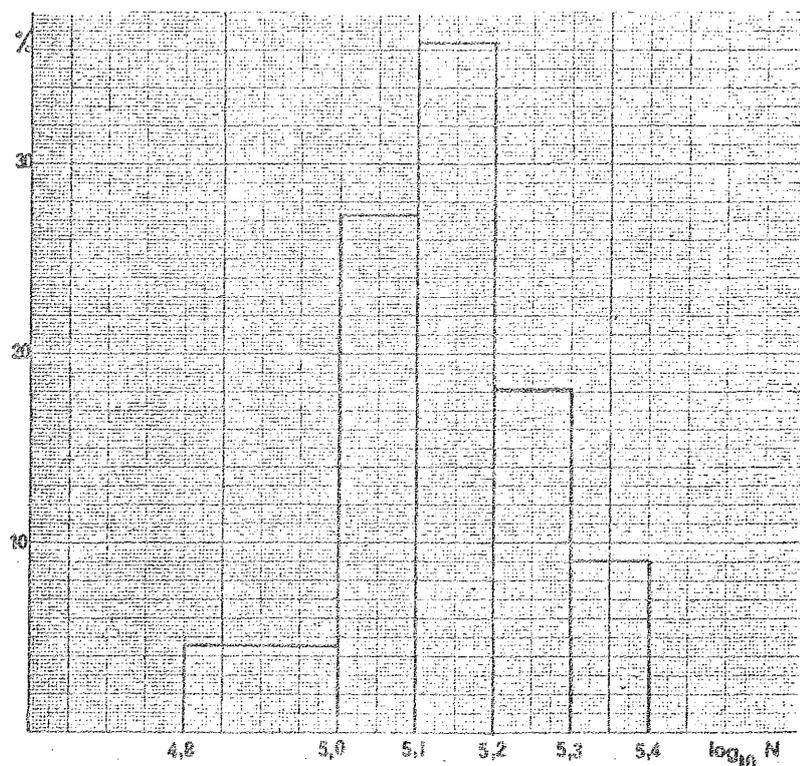


Fig 3 : distribution des valeurs du tableau V précédent

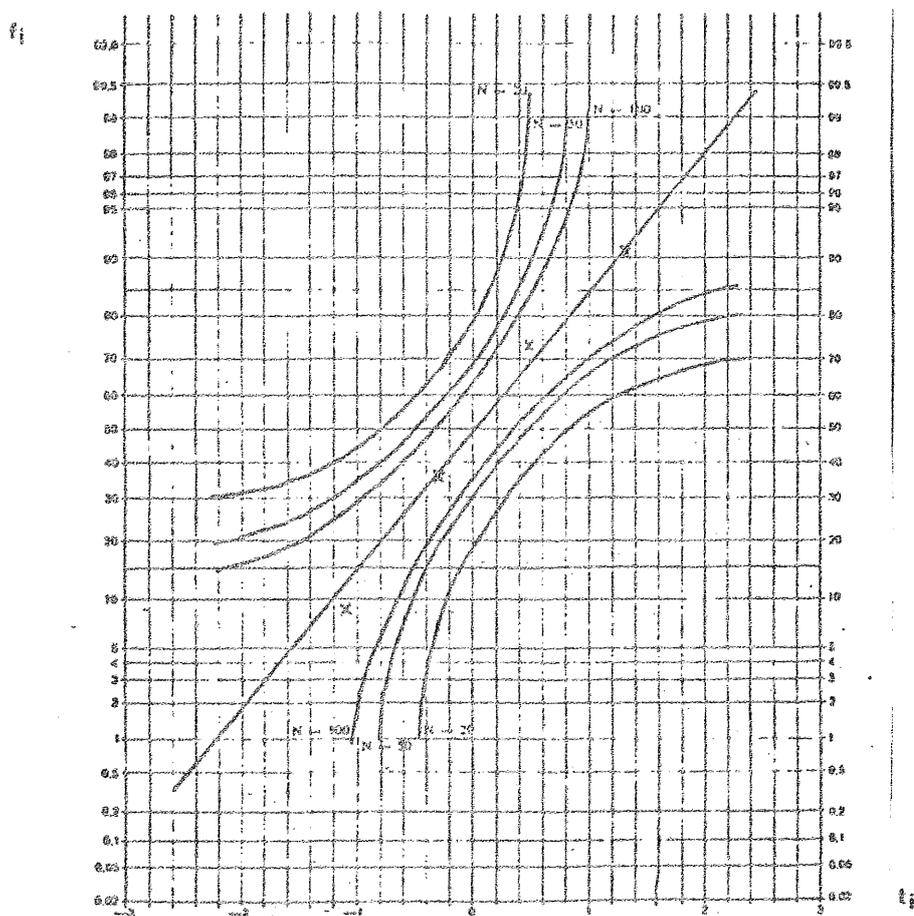


Fig. 4 : raccordement de la distribution des valeurs du tableau V précédent à une loi normale par le test de KOLMOGOROFF-SMIRNOFF (risque 5%)

Les résultats de l'analyse sont donnés dans le tableau ci-dessous (tableau VI) :

TABLEAU VI : analyse de variance à partir des valeurs du tableau V précédent

Sources de variation	Degré de liberté	Ecartés quadratiques	Estimation des variances	F' = rapport des variances	Seuil 5 %
V. totale entre les prélèvements	21	0,330345	0,015731		
V. entre les plaques	10	0,167774	0,01677	1,059	2,97
V. due aux répétitions sur une même plaque	1	0,004215	0,004215	0,265	4,96
V. résiduelle (hasard et facteurs non identifiés)	10	0,158356	0,158356		

La variation totale entre les prélèvements peut être attribuée à différents facteurs. Parmi les deux facteurs identifiés, leur variation ne peut expliquer, dans les conditions utilisées, une part même faible des variations qui existent entre les prélèvements (influence non significative). On peut donc considérer que les plaques sont identiques entre elles et par conséquent, que le lot est homogène.

- Précision de la méthode :

Les caractéristiques de la population du lot analysé sont les suivantes :

- * moyenne arithmétique : 5,1389
- * variance estimée : 0,0156
- * écart-type estimé : 0,125
- * étendue : 0,553
- * valeurs extrêmes : [4,819 ; 5,372]

La mesure ainsi opérée paraît donc suffisamment précise pour l'étude d'évolution microbienne de longue durée puisque l'étendue n'est que de 0,553 en log décimal. En effet, en bactériologie, les multiplications se traduisent fréquemment par une augmentation de valeur d'un log décimal en quelques heures.

Dans le cas présent, compte-tenu de l'écart-type, tout écart de valeur de 0,206 (soit 1,65 fois l'écart-type) par rapport à la moyenne a seulement 5 chances sur 100 d'être aussi éloigné de la moyenne en émettant l'hypothèse que la valeur considérée fasse partie de la population définie ci-dessus.

b) Thons

S'il est aisé d'obtenir pour ce type d'étude, une quantité importante et désirée de poissons dans un même lot comme c'est le cas pour la sardine, un lot de thons supposé suffisamment homogène comporte nécessairement un effectif réduit d'individus. Ce handicap nous a contraint à limiter chaque prise d'essai à un poisson au lieu de 7 pour la sardine.

Compte-tenu de cette contrainte, des prélèvements furent effectués sur des poissons pris au hasard de chaque lot réceptionné afin de déterminer l'ampleur des variations de la contamination à l'état congelé. Ce qui nous a permis de connaître les limites de l'étude et d'établir le plan d'expérience et la méthode de traitement.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau suivant :

TABLEAU VII

Résultats des prélèvements effectués sur des thons
pris au hasard dans chaque lot

LOT Essais	A		B	C	D
	Côté pile	Côté face			
1	4,81	5,07	5,21	3,00	5,11
2	5,15	5,19	6,36	2,52	4,64
3	3,13	3,63	5,35	1,76	4,95
4	4,77	5,03	4,92	1,98	5,08
5	4,56	4,23	4,99	2,08	4,76
6	4,05	3,16	5,82	-	4,15

- Plan d'expérience :

Comme on pouvait s'y attendre, on observe une hétérogénéité importante dans les résultats à l'intérieur d'un même lot sauf pour le lot D. Cette variation est due pour une grande part aux différences existant entre les individus.

Ainsi, dans le lot A, la variance observée entre les individus est bien plus importante que celle due à la position du prélèvement (entre le côté pile et le côté face). En effet, les calculs nous donnent :

* variance estimée entre individus :

 . côté pile : 0,50

 . côté face : 0,71

* variance estimée des différences entre côté pile et côté face : 0,25

Or, si on effectue par exemple la comparaison de moyenne entre l'état congelé et l'état décongelé dans le cas de deux échantillons "normaux", on aura moins de chances de trouver si une différence existe ou n'existe pas en réalité, lorsque les échantillons sont très dispersés. Dans ce cas, la comparaison des échantillons appariés permet d'augmenter les chances de mettre en évidence une différence si elle existe, à condition que ce soit les mêmes individus qui figurent dans les deux échantillons.

La méthode d'étude adoptée consiste donc à faire les prélèvements, pour l'état congelé sur l'une des faces d'un thon et pour l'état décongelé sur l'autre face du même individu, et à répéter l'essai sur les autres thons.

Le principal inconvénient de la méthode est la quantité d'individus disponible et/ou de mesures à réaliser lorsqu'on veut comparer plusieurs échantillons deux à deux.

Cette méthode a été appliquée pour les lots A, B et C, à l'exception du lot D où l'échantillon était plus homogène.

- Méthode de traitement :

Par manque d'effectifs dans chaque lot de poisson, la faible quantité de prélèvements effectués ne nous a pas permis de vérifier que la variable de la population se distribuait selon une loi "normale".

Aussi, deux voies ont alors été utilisées pour le traitement :

* la comparaison des échantillons, notamment la comparaison de moyennes, en supposant que la distribution soit "normale"

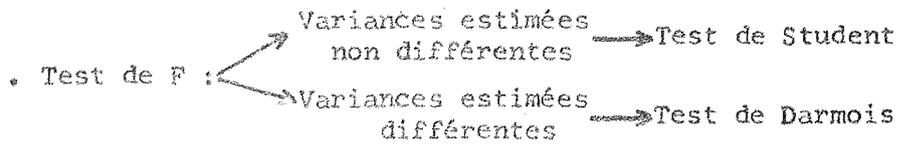
* les tests non paramétriques, indépendants de la distribution, donc valables même si celle-ci est "normale". Ils ne reposent plus sur les valeurs de la variable observée, mais sur les rangs.

Dans le cas où les résultats par les deux voies ne sont pas concordants, seule la conclusion des tests non paramétriques sera prise en considération.

L'ensemble des tests utilisés pour le traitement peut être résumé par l'organigramme suivant :

Echantillons non appariés (lot D)

- Test non paramétrique : —————> Test de Mann et Whitney
- Comparaison de moyennes :



Echantillons appariés (A, B et C)

- Test non paramétrique :
 - $N \geq 5$ —————> Test de Wilcoxon
 - $N < 5$ —————> Test de signes
- Test paramétrique de comparaison de 2 séries appariées
t comparé aux valeurs de la table de Student.

3. Conclusions

Dans le cas de la sardine, l'évolution bactérienne sera suivie tout le long de la décongélation et à l'issue de celle-ci, par des prélèvements réguliers et successifs. Ce qui nous permettra de tracer de façon suffisamment précise l'allure des courbes d'évolution de la flore aérobie.

Dans le cas du thon, compte-tenu de la dispersion des résultats et de la difficulté d'approvisionnement d'échantillons, nous nous contenterons de comparer la contamination en fin de décongélation par rapport à l'état congelé et d'estimer grossièrement l'évolution de la flore en mesurant les conséquences sur des poissons de différentes tailles.

II - CAS DE DECONGELATIONS LENTES

Ont été considérées comme lentes les décongélations s'effectuant à l'air calme à +4°C comme à +20°C.

1. Plaques de sardine

a) Rappel des conditions

Les essais furent effectués avec de la sardine (sardina pilchardus) d'un moule de 25 à 35 au kg, non éviscérée, congelée en plaques de 65 mm d'épaisseur (5 kgs environ), en tenant compte des variations des conditions indiquées dans le tableau ci-dessous.

TABEAU VIII
Caractéristiques des matières premières
utilisées pour divers essais

C O N D I T I O N S												
Echantillons	Lieu		Période campagne de pêche		Séjour sous glace		Paroi ventrale		Température entreposage		durée entreposage	
	Méditerranée	Atlantique	début	fin	1j	2j	Intacte	Lysée	-20°C	-30°C	1 sem.	>1 mois
1	X		X	X				(X)	X		X	
2	(X)		X	X			X		X		X	
3		X		X	X		X		X			(X)
4		X		X	X		X			(X)		X
5		(X)	X		X		X		X		X	
6		X		X		(X)	X		X		X	
7		X		(X)	X		X		X		X	
8		X	X		X		X			(X)	X	
9	X		X		X			(X)	X			(X)

- Echantillonnage et prélèvement

Un lot de sardines d'une même pêche fut expédié sous glace au laboratoire pour être congelé puis entreposé au moins une semaine. Afin de suivre de façon régulière au cours du temps, l'évolution bactérienne en surface, 4 plaques de sardines étaient utilisées pour chaque essai. Leur décongélation est décalée dans le temps afin d'obtenir des résultats assez rapprochés pour le tracé de la courbe de croissance (on a montré que les plaques sont identiques entre elles dans la première partie).

Pour déterminer la contamination à l'état congelé, le prélèvement s'effectue entre 5 à 10 heures après décongélation partielle à +4°C.

Sept sardines sont prélevées à la surface des plaques et mises sous sachets en polyéthylène. La prise d'essai se fait ensuite en découpant stérilement pour chaque poisson, la partie du corps située entre l'anus et la queue.

b) Air calme à +20°C

α) Evolution bactérienne quantitative

Les figures 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 et 12 représentent les courbes d'évolution lors des décongélation des plaques préparées à partir d'échantillons numérotés de 1 à 7 du tableau VIII précédent (paragraphe 1 a de la partie II).

Ont été alors déterminés :

- les "temps de latence" théoriques: sur l'abscisse correspondant à l'intersection des prolongements de la droite parallèle à l'axe des abscisses et de la pente de croissance exponentielle

- les pentes de croissance : correspondant au rapport \log_{10} des dénombrements/heure, par la méthode graphique

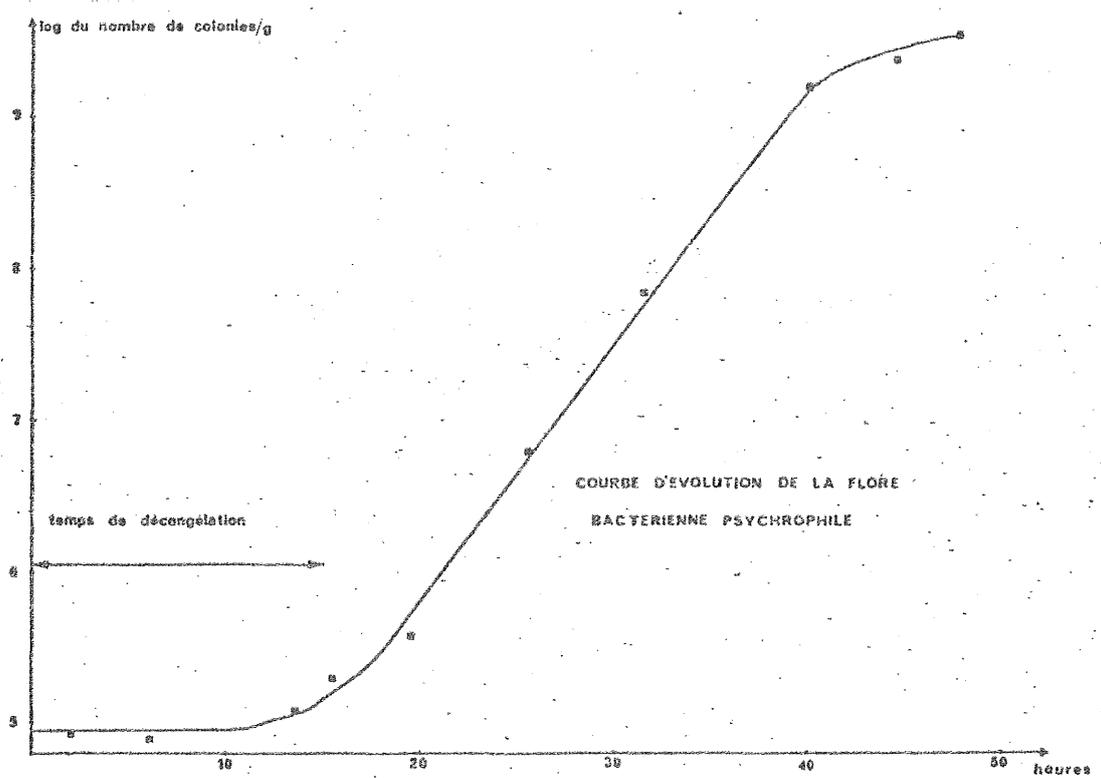
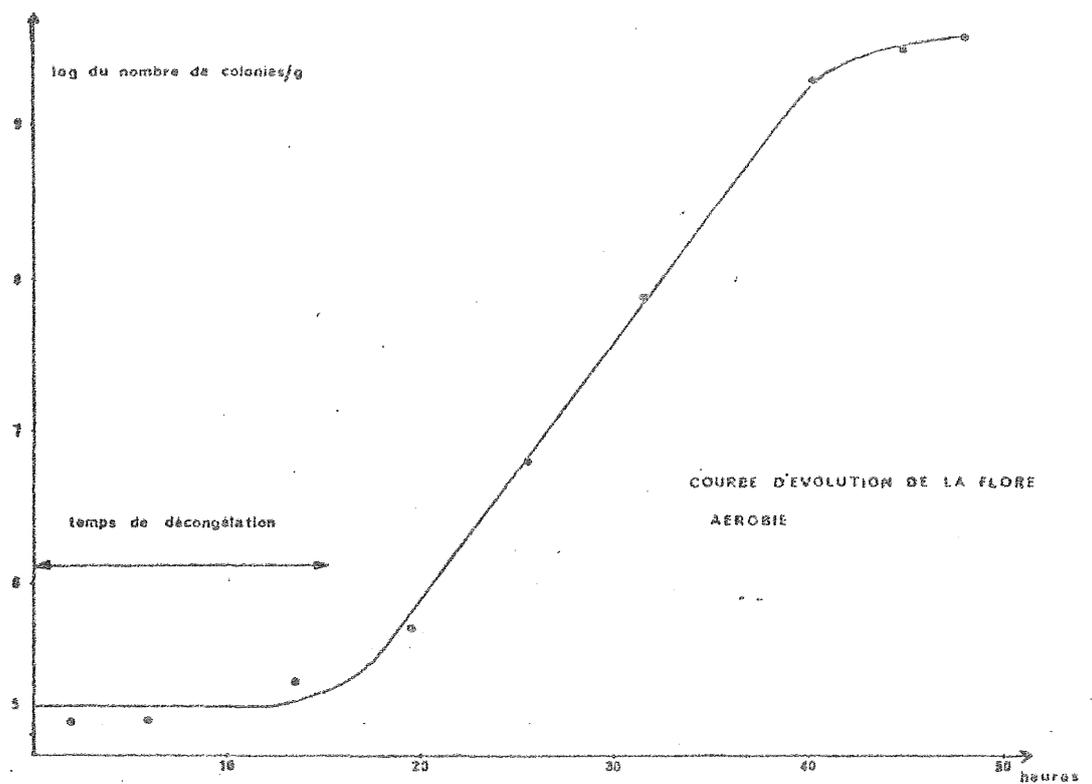


Fig. 5 et 6 : Courbes d'évolution de la flore aérobie et de la flore psychrophile lors de la décongélation en air calme à +20°C (échantillon 1) .

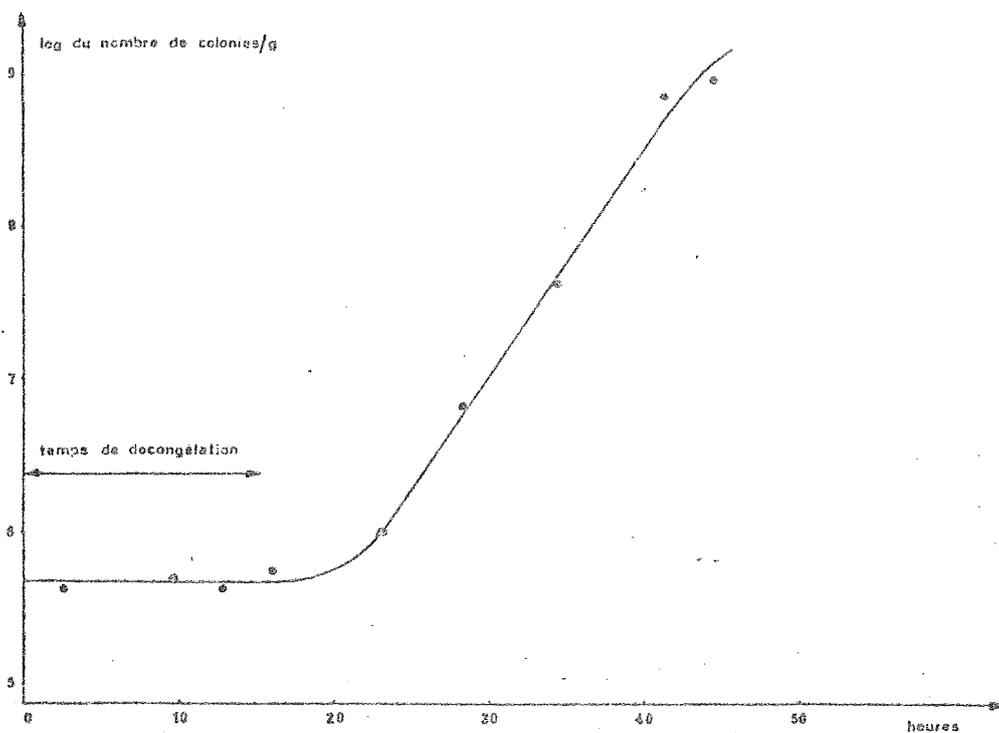
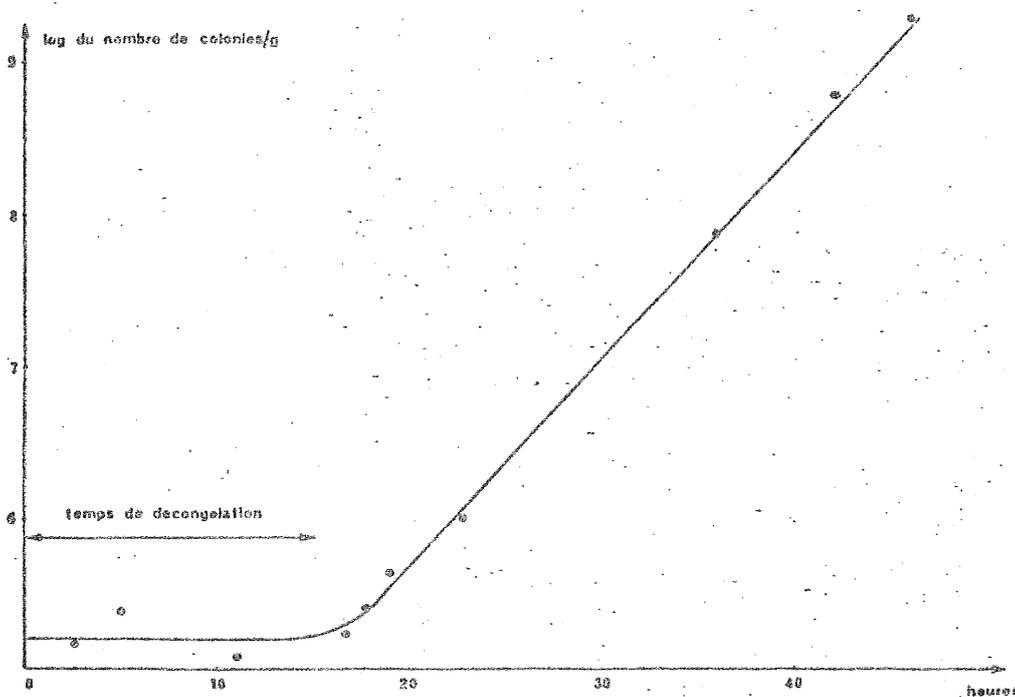


Fig 7 et 8 : courbes d'évolution de la flore aérobie lors de la décongélation en air calme à +20°C : échantillon 2 (en haut); échantillon 3 (en bas)



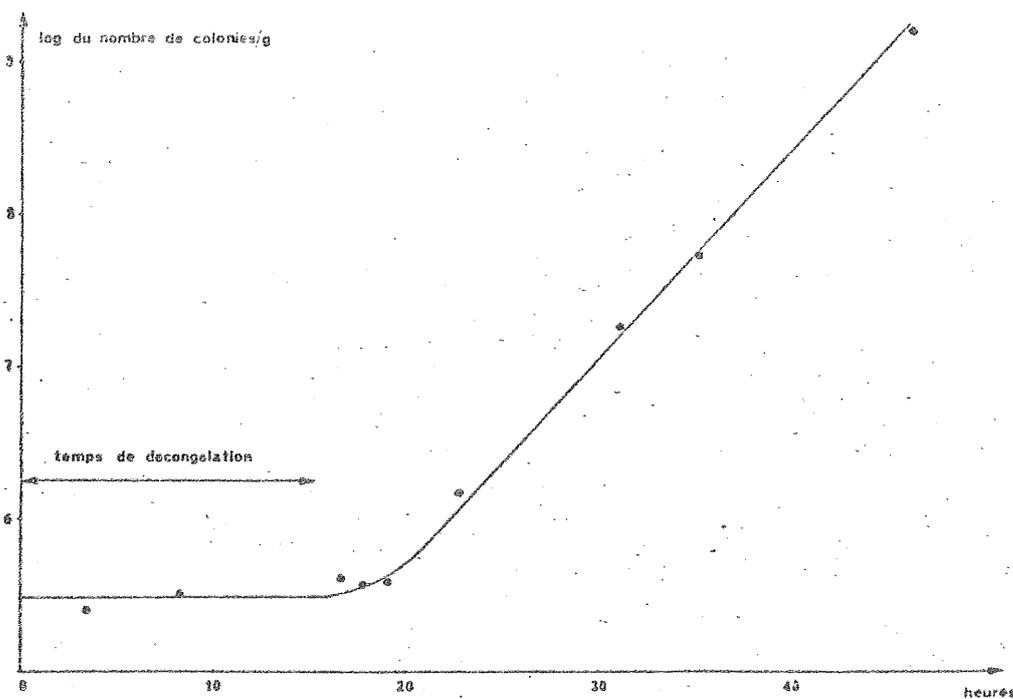
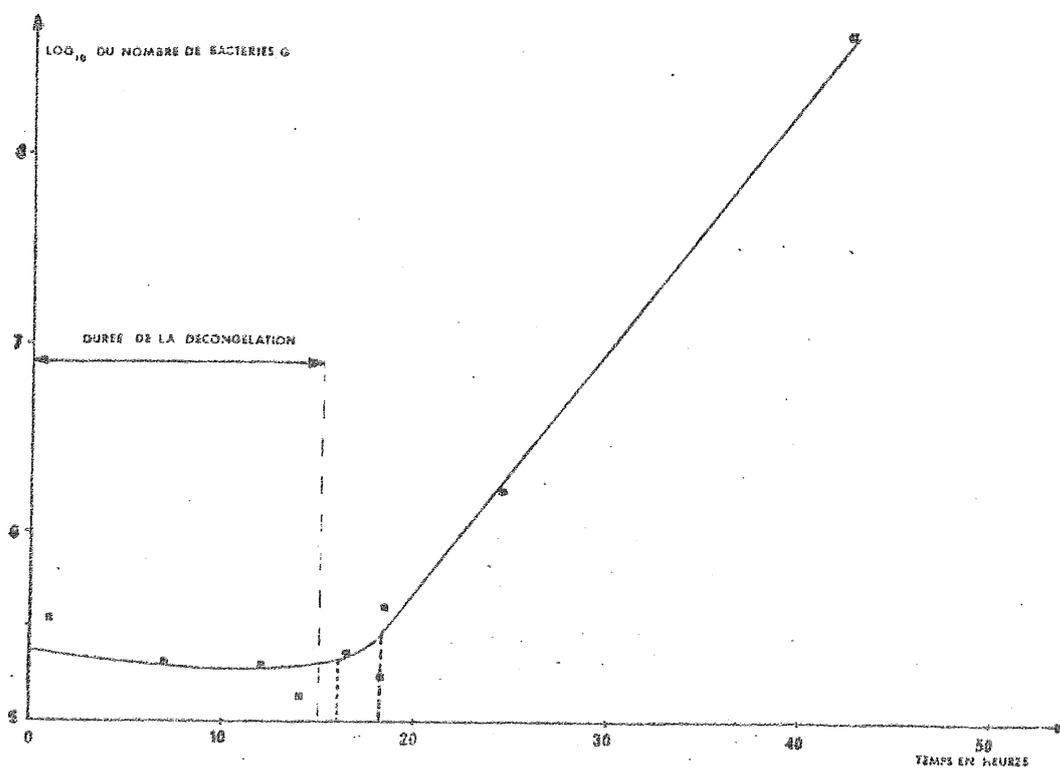


Fig 9 et 10 : courbes d'évolution de la Flore aérobie lors de la décongélation en air calme à +20°C : échantillon 4 (en haut); échantillon 5 (en bas).



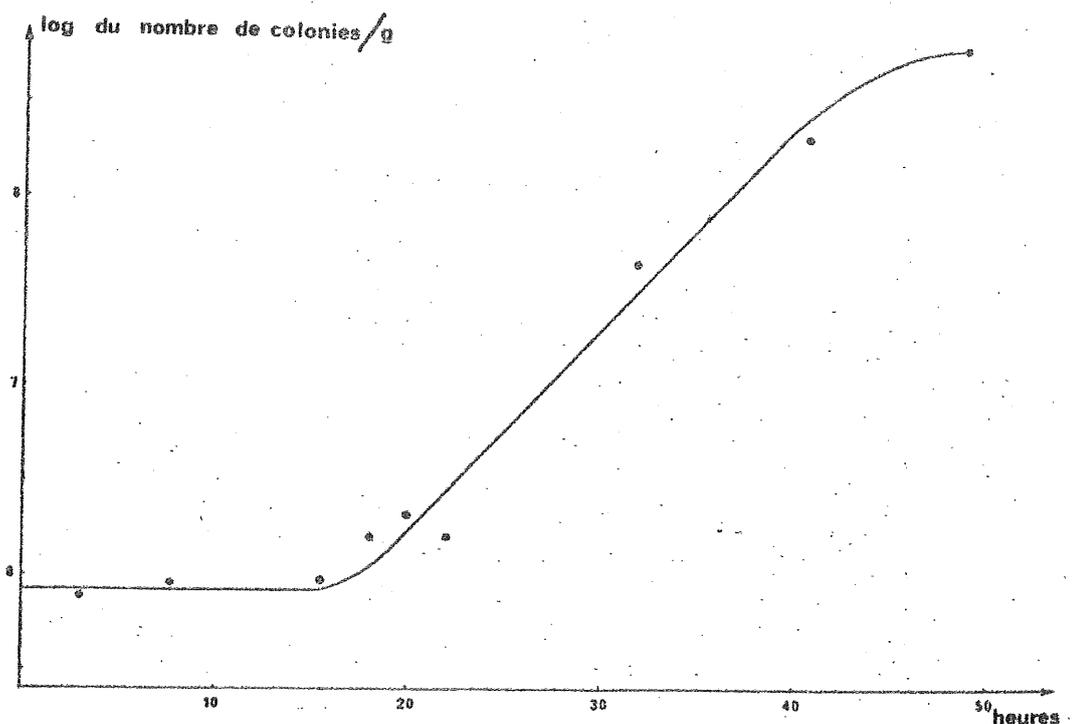
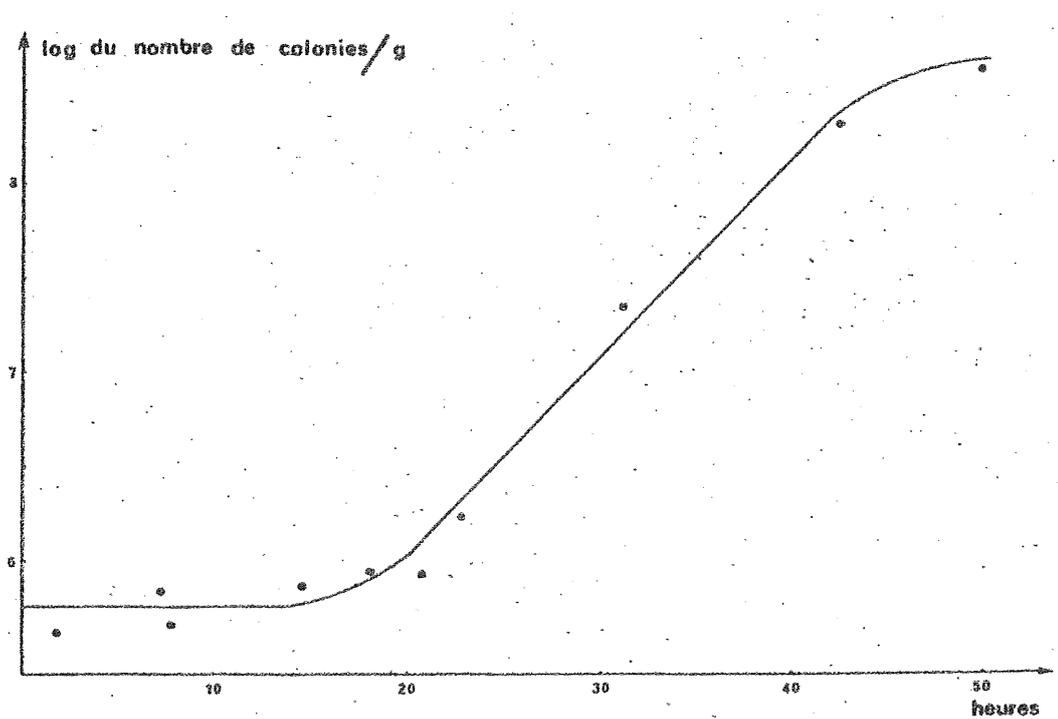


Fig 11 et 12 : courbes d'évolution de la flore aérobie lors de la décon-
gélation en air calme à +20°C : échantillon 6 (en haut); échantillon 7 (en bas).



- les temps de génération : également par méthode graphique après conversion des valeurs de l'ordonnée en logarithmes à base 2 par la formule :

$$\log_2 N = 3,32193 \log_{10} N$$

Les résultats obtenus, concernant l'évolution de la flore aérobie sont regroupés dans le tableau suivant :

TABLEAU IX
Valeurs des caractéristiques des courbes d'évolution
de la flore aérobie (décong. +20°C)

Echantillons	Temps de latence théorique (h)	Pente de croissance exponentielle ($\log_{10} N/h$)	Temps de génération (h)
1	16.00	0,17	1.50
2	21.00	0,15	2.10
3	17.00	0,14	2.15
4	19.00	0,14	2.15
5	18.00	0,13	2.15
6	17.00	0,11	2.55
7	17.30	0,11	3.00
Moyenne arithmétique	18.00	0,135	2.25
Moyenne géométrique	16.00	0,14	2.15
Valeurs extrêmes	16 - 21	0,11 - 0,17	1.50 - 3.00

N : nombre de colonies dénombrées

On constate que dans tous les essais, il s'écoule une période de "latence" relativement importante (de 16 à 20 heures) avant l'apparition d'une multiplication exponentielle; celle-ci étant très active (temps de génération de 2 heures et demi environ), le niveau de contamination atteint au bout de 48 heures peut être élevé (de l'ordre de 10^9 germes par gramme).

On peut noter également, à partir des courbes, que :

- les bactéries se trouvant à la surface du poisson ne sont pas encore en phase de multiplication à l'issue de la décongélation, puisque celle-ci ne dure que 15 heures. Aussi ne s'étonnera-t-on pas des bons résultats microbiologiques obtenus par d'autres auteurs (CHEN et coll. 1976; RACCACH et BAKER 1978) en soumettant leurs produits congelés aux environs de 20°C, particulièrement par HOUWING (1972) en décongelant des blocs de crevettes à l'air ambiant en 10 heures.

- l'évolution des psychrophiles est similaire à celle de la population aérobie, ce qui n'est pas surprenant, étant donné le caractère de la flore du poisson qui est surtout composée de psychrotrophes. (fig 5 et 6)

Signalons enfin, que les courbes obtenues étant la résultante de l'évolution de divers germes, le début de multiplication peut être observé très approximativement 3 heures avant la fin du temps de latence théorique.

(3) Evolution bactérienne qualitative

L'analyse qualitative a été faite à partir de trois lots de sardines différents (échantillons 2, 3 et 4 du tableau VIII), les prélèvements ont eu lieu après environ 6 heures, 26 heures et 40 heures de décongélation. Après ensemencement sur milieu de Zobell, l'incubation a été réalisée aussi bien à +20°C pendant 5 jours qu'à +4°C pendant 21 jours.

Les germes déterminés au niveau du genre ou des groupes d'espèces sont classés dans le tableau X de la page suivante.

La flore qualitative de la sardine congelée se compose principalement de Moraxella et Pseudomonas/alcaligenes; on peut y trouver également Vibrio, Corynebacteriaceae et coques Gram +, Flavobacterium/cytophaga et Enterobacteriaceae.

TABLEAU X

Flore bactérienne aérobie qualitative de la sardine prélevée à différents stades du réchauffement de plaques congelées (décongélation air calme à +20°C)

Echantillons	Incubation des boîtes.	Heures de décongélation	Coryneformes	Micrococaceae	Vibrio	Aeromonas	Pseudomonas/Alcaligenes	Enterobacteriaceae	Moraxella	Acinetobacter	Flavobacterium/Cytophaga	Non identifié	Total
2	+20°C	6.00	3	3	2	0	18	1	27	2	3	3	62
		26.00	0	1	1	0	5	0	25	0	1	0	33
		49.30	2	0	0	0	11	0	34	0	0	2	49
	+ 4°C	6.00	7	1	2	0	10	3	26	0	1	2	52
		26.00	3	0	1	0	8	0	13	0	2	1	28
		49.30	4	0	6	0	12	0	35	0	0	1	58
3	+20°C	7.00	2	2	0	0	19	1	22	0	3	1	50
		26.00	1	0	1	0	15	0	41	0	1	3	63
		40.00	3	1	1	0	18	1	42	1	1	2	70
	+ 4°C	7.00	3	1	1	0	13	2	23	0	0	2	45
		26.00	2	2	0	0	11	1	44	0	1	0	61
		40.00	2	1	0	0	12	0	40	0	4	1	60
4	+20°C	5.30	3	5	1	0	13	4	17	0	3	1	47
		25.00	7	1	3	0	15	3	27	0	1	2	32
		49.00	4	2	1	0	12	2	32	1	5	2	61
	+ 4°C	5.30	2	0	0	0	6	0	17	0	2	2	31
		25.00	5	2	1	0	16	1	29	1	0	3	58
		49.00	7	0	1	0	13	2	21	0	2	2	48

Lors de la décongélation à +20°C, *Moraxella* et *Pseudomonas*/alcaligenes prédominent dans les prélèvements effectués après environ 7 heures, 26 heures et 40 heures de décongélation, aussi bien dans les boîtes incubées à +20°C qu'à +4°C.

Cette composition s'ajoute à celle déjà obtenue par beaucoup d'auteurs qui notent une prédominance de *Moraxella* (ou d'*Achromobacter*) et de *Pseudomonas* sur divers produits marins, et se rapproche des observations de BOSE (1959) qui constate une prédominance de bâtonnets Gram négatif du genre *Achromobacter* sur les sardines indiennes entreposées sous glace.

c) Air calme à +4°C

α) Evolution bactérienne quantitative

Les figures 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 et 21 représentent les courbes lors des décongélation à +4°C des plaques préparées à partir des échantillons numérotés 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8 et 9 du tableau VIII (paragraphe 1 a de la partie II).

TABEAU XI

Caractéristiques des courbes d'évolution de la flore aérobie (décong. +4°C)

Echantillons	Temps de latence théorique (h)	Pente de croissance exponentielle ($\log_{10} N/h$)	Temps de génération (h)
1	46.00	0,018	16.00
2	45.00	0,025	12.00
3	58.00	0,011	26.00
5	38.00	0,040	7.30
6	57.00	0,012	25.00
7	40.00	0,040	7.30
8	43.00	0,041	8.00
9	49.30	0,025	12.00
Moyenne arithmétique	47.00	0,025	14.15
Moyenne géométrique	45.30	0,025	12.00
Valeurs extrêmes	38 - 58	0,011 - 0,041	7.30 - 26

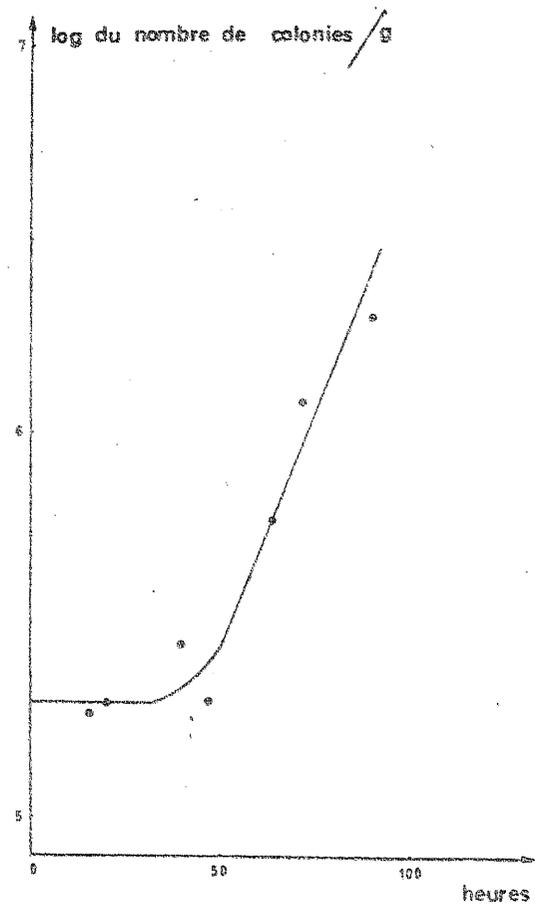
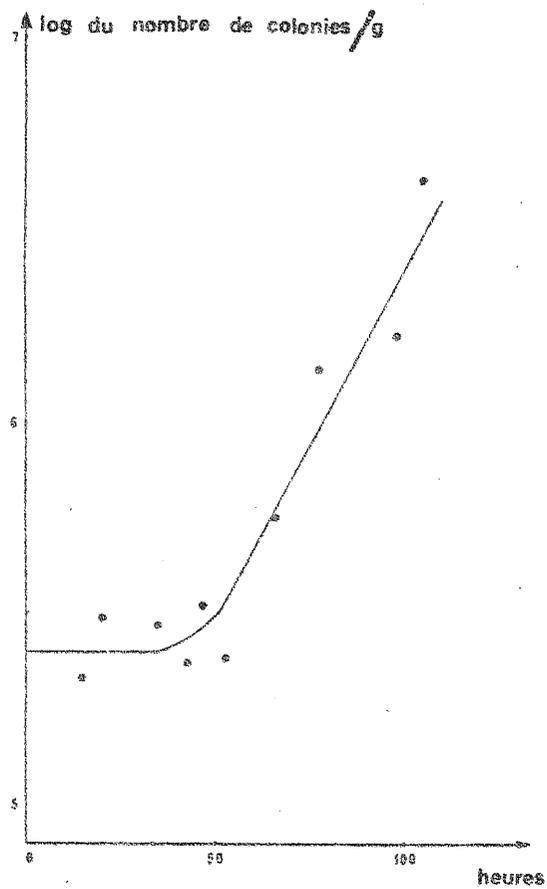


Fig 13 et 14 : courbes d'évolution de la flore aérobie

lors de la décongélation en air calme à +4°C : échantillon 1 (à gauche); échantillon 2 (à droite)

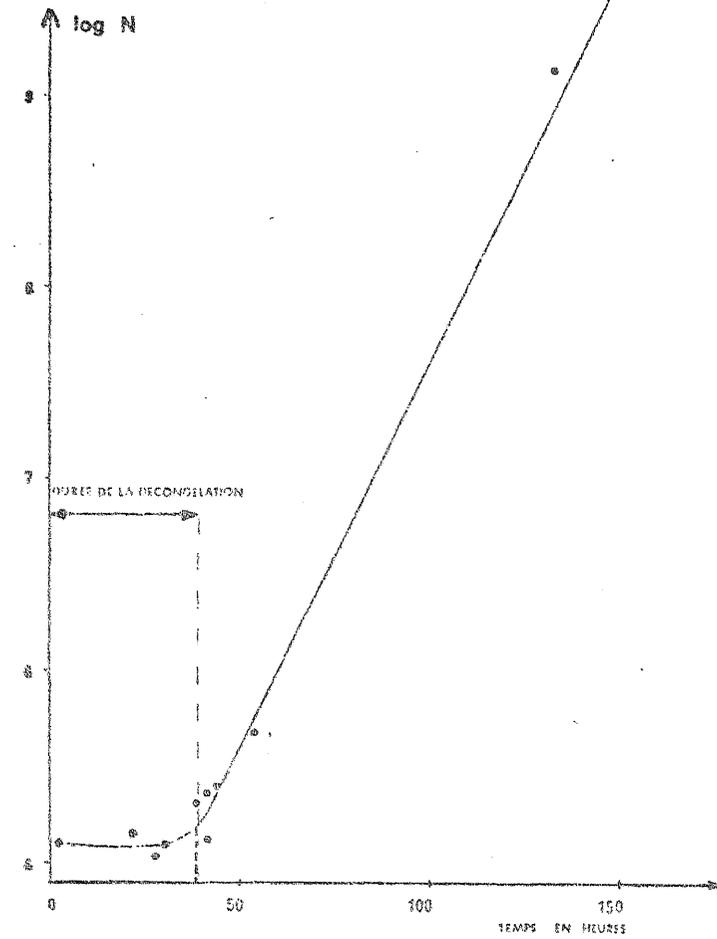
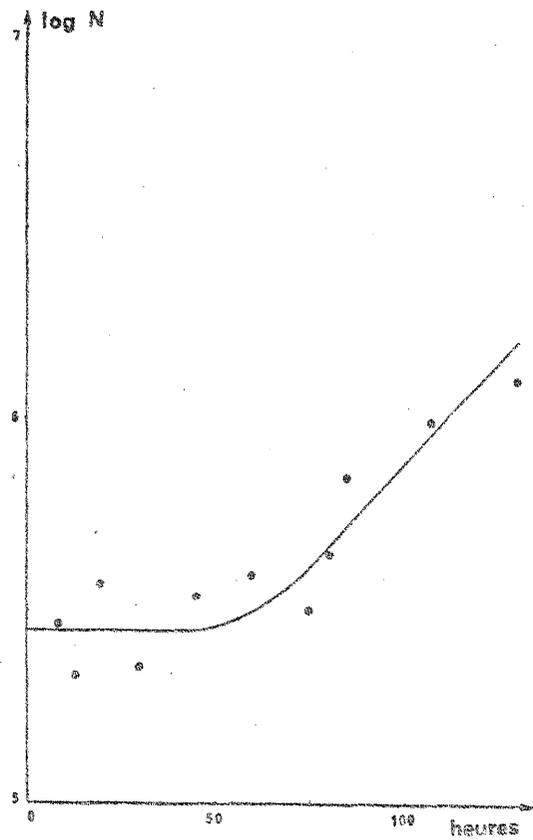


Fig 15 et 16 : courbes d'évolution de la flore aérobie lors de la décongélation en air calme à +4°C : échantillon 3 (à gauche); échantillon 5 (à droite)

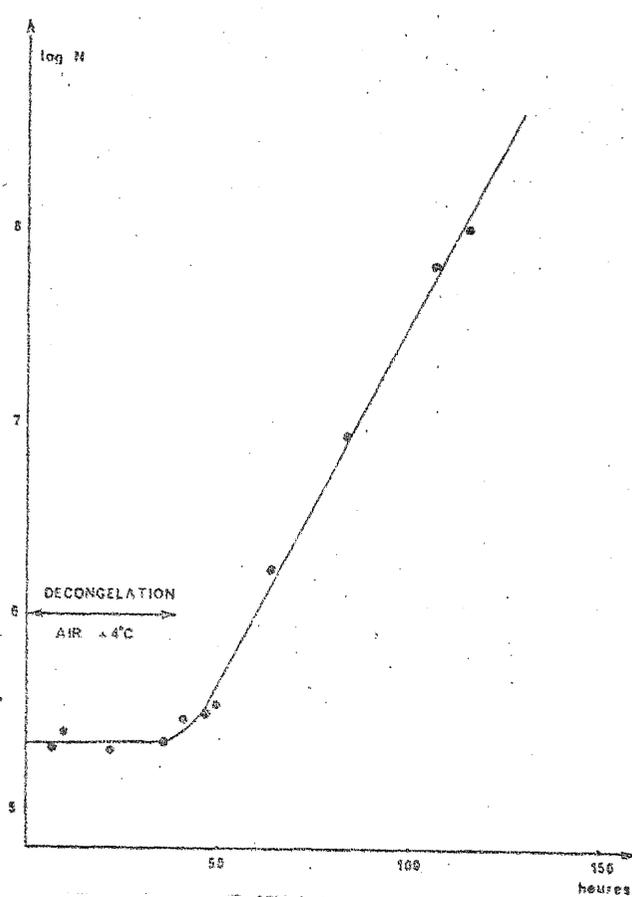
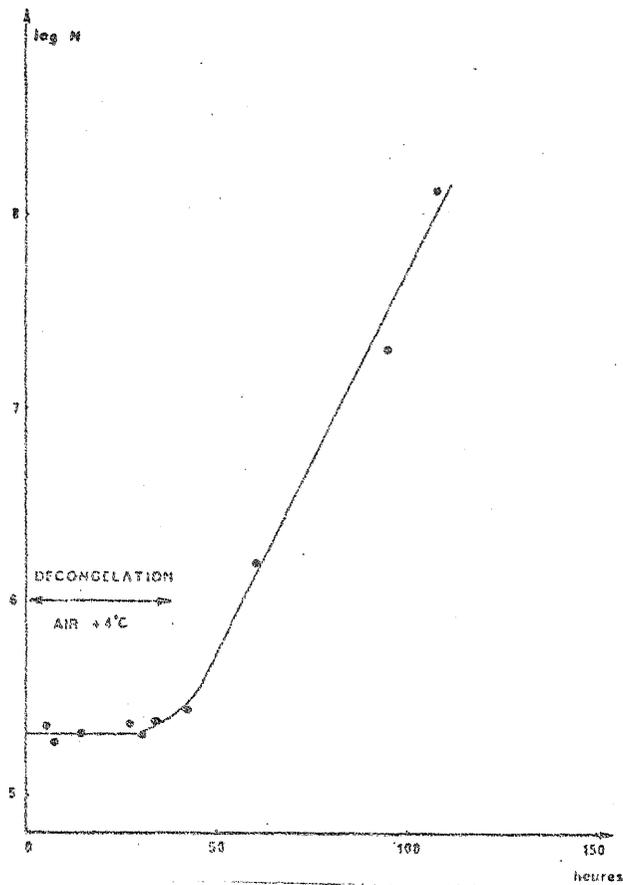
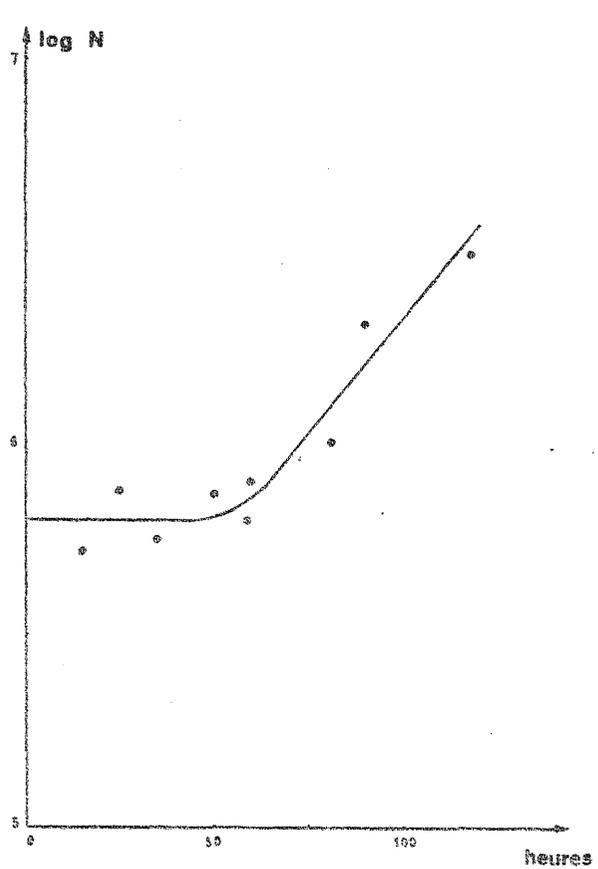


Fig 17, 18 et 19 : courbes d'évolution de la flore aérobie lors de la décongélation en air calme à +4°C : échantillon 6 (à gauche); échantillon 7 (au centre); échantillon 8 (à droite)

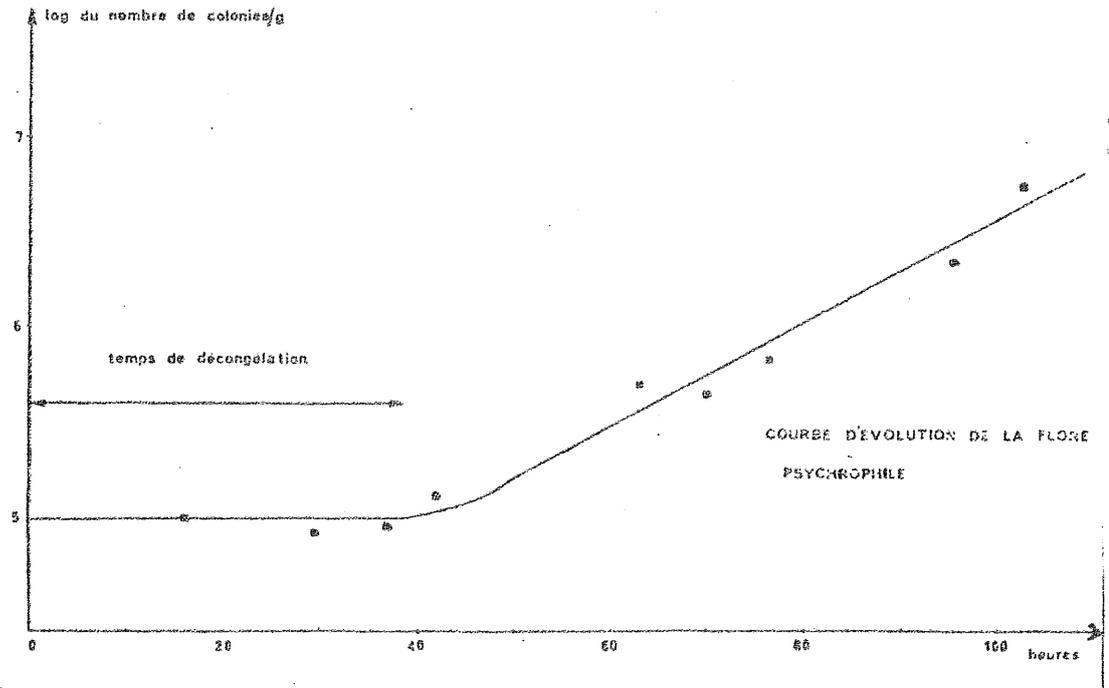
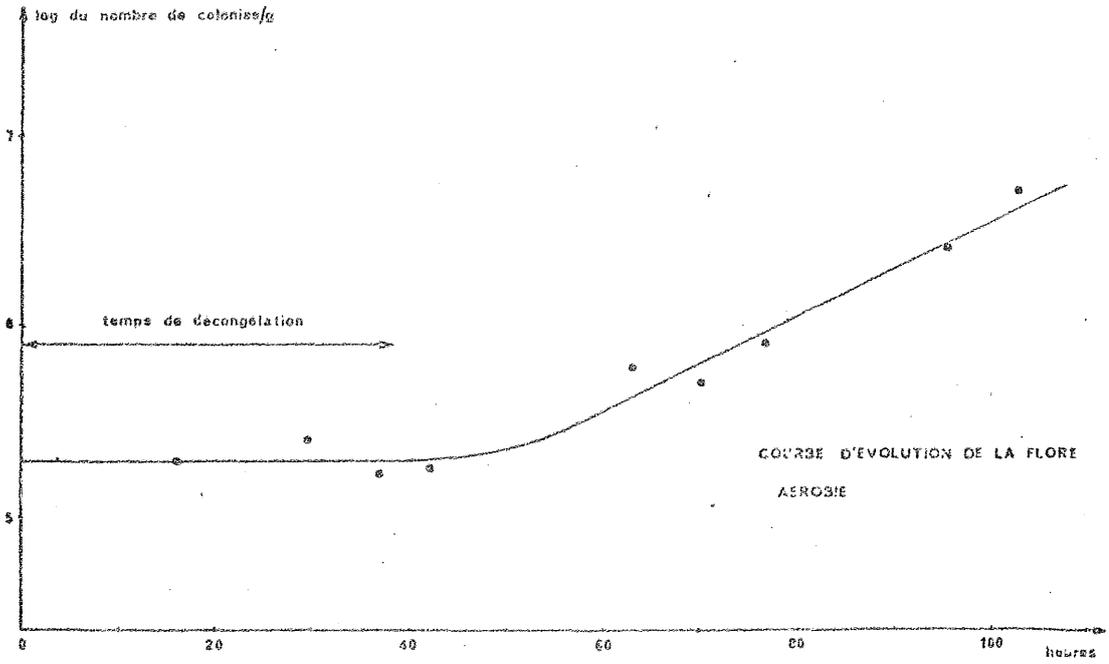


Fig 20 et 21 : courbes d'évolution de la flore aérobique et de la flore psychrophile lors de la décongélation en air calme à +1°C (échantillon 9) .

Les valeurs caractéristiques obtenues à partir de ces courbes (tableau XI) révèlent que :

- la période de "latence" est importante dans tous les cas (38 heures à 52 heures avec une moyenne de 47 heures)

- la vitesse de croissance bactérienne qui fait suite est très variable : ainsi, les valeurs extrêmes du temps de génération sont de 7 heures et demi et 26 heures. Très faible dans certains échantillons, le niveau de contamination peut atteindre 10^9 germes par gramme dans d'autres.

Là encore, aucune augmentation de la population bactérienne, par rapport à l'état congelé, ne peut être observée, si un prélèvement est effectué juste en fin de décongélation d'une plaque de 65 mm de petites sardines (durée de décongélation : 38h30). C'est ainsi que RACCACH et BAKER (1978) ne constatent aucune influence de la décongélation à +4,4°C sur la contamination de la chair de poisson.

De la même façon, les courbes d'évolution de la flore psychrophile et de la flore aérobie sont similaires, avec un niveau de contamination initial légèrement supérieur pour ce dernier.

Enfin, on peut estimer très approximativement que la multiplication débute 9 à 10 heures avant la fin du temps de latence théorique.

β) Evolution bactérienne qualitative

L'analyse de la flore a été faite sur les mêmes lots de sardines que ceux utilisés pour l'évolution qualitative à la décongélation à +20°C. (échantillons 2, 3 et 4 du tableau VIII)

Les prélèvements ont eu lieu pendant la phase de latence de l'évolution de la flore totale (aux environs de 30h) et pendant la phase de croissance (aux environs de 60h puis 90h). L'incubation des boîtes, après ensemencement, a été réalisée à +20°C et à +4°C.

TABLEAU XII

Flore bactérienne aérobie qualitative de la sardine prélevée à différents stades du réchauffement des plaques congelées (décongélation air calme à +4°C)

Echantillons	Incubation des boîtes		Coryneformes	Micrococaceae	Vibrio	Aeromonas	Pseudomonas/Alcaligenes	Enterobacteriaceae	Moraxella	Acinetobacter	Flavobacterium/Cytophaga	Non identifié	Total
	Heures	de décongélation											
2	+20°C	30.00	4	3	1	0	14	2	32	1	2	0	59
		60.00	3	0	2	0	9	1	23	0	1	0	39
		90.00	2	0	1	-	10	3	32	0	1	2	51
	+ 4°C	30.00	3	1	6	0	18	1	21	0	2	1	53
		60.00	3	2	9	0	20	3	22	2	3	0	64
		90.00	1	0	4	0	8	2	15	0	1	0	31
3	+20°C	28.00	10	3	0	0	12	6	41	0	3	3	78
		52.00	3	2	3	0	9	3	28	0	2	2	52
		95.00	7	1	1	0	13	4	22	0	3	0	51
	+ 4°C	28.00	3	2	1	0	14	2	25	0	1	0	48
		52.00	4	1	1	0	16	2	21	0	1	3	48
		95.00	4	0	0	0	16	0	34	0	0	2	56
4	+20°C	26.30	2	4	1	0	6	1	15	0	1	0	30
		74.00	5	3	1	0	6	2	20	0	2	2	41
		102.00	6	1	3	0	7	1	23	0	1	3	45
	+ 4°C	26.30	1	1	1	0	13	0	20	0	0	1	37
		74.00	2	0	0	0	22	1	34	0	2	2	63
		102.00	4	0	2	0	14	0	36	2	2	4	64

Sont comptabilisés dans le tableau XII (p. 62) les germes après identification par genres ou par groupe d'espèces.

Proportionnellement, les résultats sont comparables quelle que soit la température d'incubation choisie (+20°C ou +4°C).

Nous retrouvons ici les mêmes bactéries que pour la décongélation à +20°C puisque les échantillons sont les mêmes; en outre, Moraxella et Pseudomonas/alcaligenes prédominent également pendant la période de croissance.

d) Comparaisons entre l'évolution à +20°C et celle à +4°C

Sur le plan quantitatif, la température fait varier fortement le comportement de la flore (tableaux IX et XI), en revanche il n'y a pas de différence qualitative entre +20°C et +4°C (tableaux X et XII). Cette influence n'est pas sans conséquence sur le plan pratique.

e) Influence de la température de décongélation

Lors de la décongélation, la courbe de croissance débute comme dans le cas d'une culture de souche pure, par une phase de latence, bien que cette dernière n'ait pas exactement la même signification dans le cas présent. En effet, aucune variation quantitative n'intervient pendant 18 heures environ à +20°C et 47 heures environ à +4°C.

Pendant la phase de multiplication, la vitesse de croissance diminue très vite avec la température, mais peut rester dans certains cas appréciable, compte-tenu de la nature des bactéries isolées. En outre, les proportions relatives de ces différents germes ne font apparaître aucun changement significatif, lorsqu'on modifie la température. Nous avons vérifié cette constatation par l'expérience suivante : un échantillon de sardines congelées en plaques a été divisé en trois lots : le lot A a été décongelé et laissé à +20°C, puis le lot B à +4°C; le lot C a été décongelé à +4°C, ensuite transféré dans une chambre régulée à +20°C.

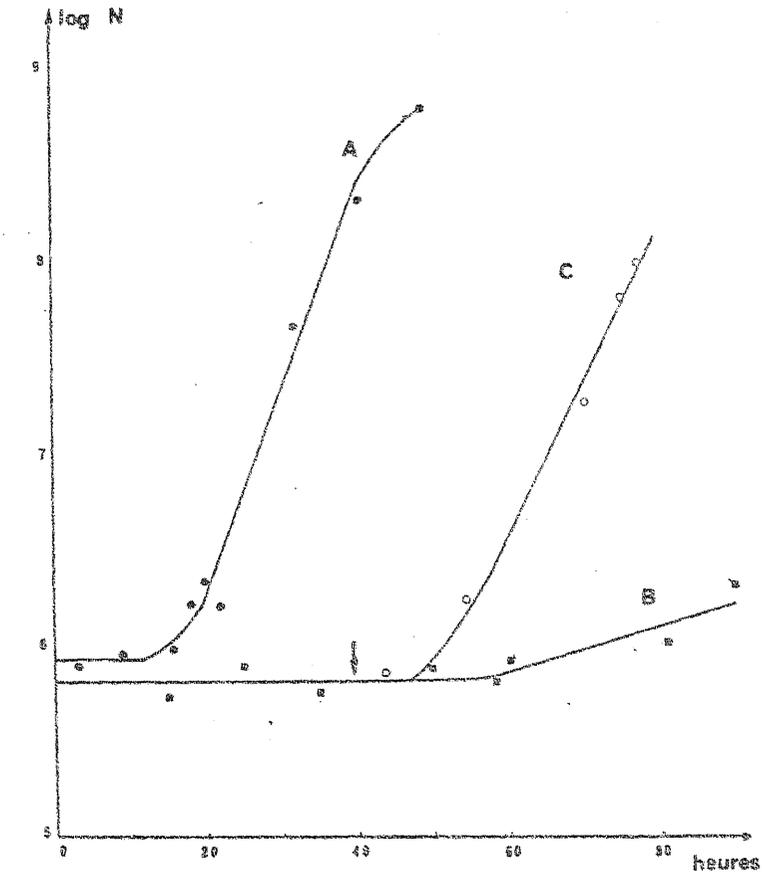
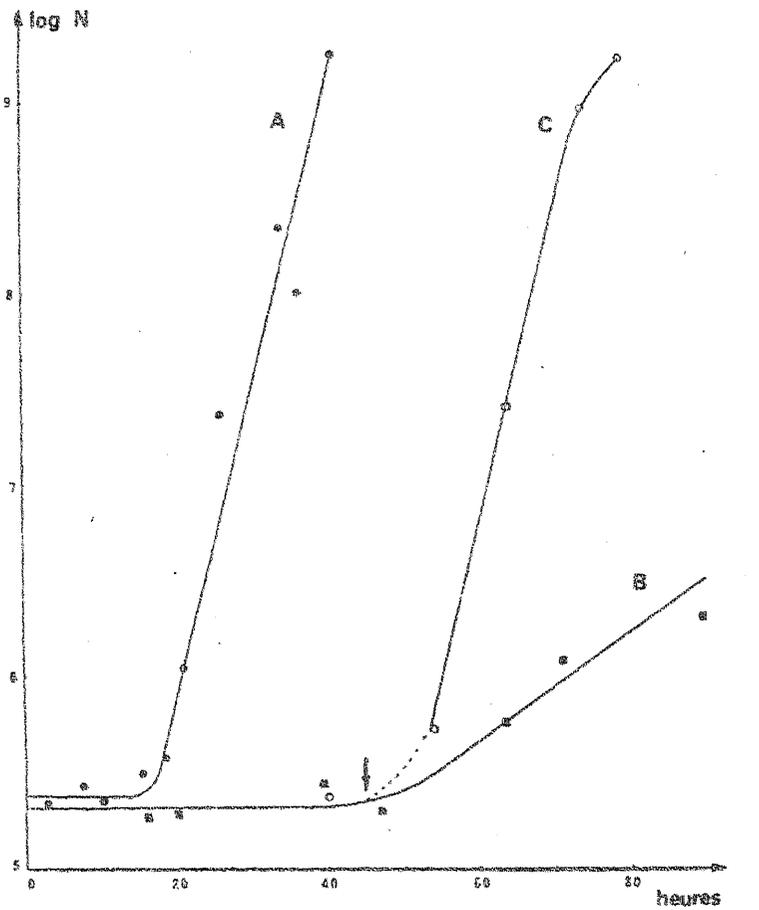


Fig 22 et 23 : courbes d'évolution de la flore bactérienne (A) : lors de la décongélation en air calme à +20°C, (B) : lors de la décongélation en air calme à +4°C, (C) : pendant la décongélation à +4°C, puis exposition à +20°C à l'état décongelé - échantillon 6 (à gauche); échantillon 2 (à droite)

Dans les trois cas, l'évolution de la flore totale au cours du temps a été suivie. En ce qui concerne le lot C, précisons que le transfert s'est effectué peu de temps après la décongélation complète, mais avant la fin de la phase de latence à +4°C.

Les essais ont été effectués sur deux échantillons de caractéristique n° 6 et n° 2 du tableau VIII (paragraphe 1a).

Les courbes de croissance obtenues ont alors été comparées : (fig 22 et 23).

On peut constater que les pentes de croissance des lots A et C sont presque parallèles.

En outre, comme nous l'avons déjà signalé, la comparaison des courbes des lots B et C fait ressortir que la multiplication bactérienne débute pratiquement bien avant la fin de la phase de latence théorique déterminée.

(3) Conséquences pour la décongélation du poisson

- Sur le plan quantitatif, la température influe fortement sur l'évolution bactérienne mais de la même façon, elle fait varier la durée de décongélation

TABLEAU XIII

Comparaison entre les temps de latence et les durées de décongélation en air calme des plaques de sardines

	Temps de latence		Durées de décongélation		
	moyen théorique	moyen réel*	Plaques 65mm		Plaques 100mm
			T=20 à 30/kg	T=9 à 11/kg	T = 9 à 11/kg
Air calme à +20°C	13h00	15h00	15h00	12h30	20h30
Air calme à + 4°C	47h00	38h00	38h30	45h45	72h00

T = taille des sardines (nombre/kg)

* temps de latence réel = temps de latence théorique - 3h (décong. +20°C)
 = temps de latence théorique - 9h (décong. + 4°C)

En mettant en parallèle les durées de décongélation et celle de la phase de latence correspondante, on constate que dans beaucoup de cas elles sont égales; dans le cas contraire, très peu de différence les sépare. (tableau XIII)

Dans ces conditions, les bactéries qui contaminent la matière première seront plus ou moins au stade de multiplication bactérienne, lors du traitement à la température de l'usine.

Dans le cas de la décongélation à +20°C, l'accroissement du nombre de bactéries qui s'ensuivra, aura une évolution à peu près similaire aux courbes A des figures 22 et 23 ; dans le cas d'une décongélation à +4°C, il suivra celle des courbes C. En définitive, on aboutira presque à la même qualité bactériologique après une même durée de traitement du poisson une fois décongelé.

On peut donc admettre que ces deux types de décongélation s'adaptent assez mal à des opérations industrielles, si celles-ci doivent se dérouler dans des conditions d'hygiène rigoureuses. En effet, compte-tenu de la longueur du cycle de décongélation, 15 heures ou 38 heures et demi, la quantité de poisson destinée à être traitée dans une journée, sera décongelée en une seule fois. Il s'ensuit que les denrées qui seront traitées en fin de journée dans le lot considéré, risquent de présenter un danger pour la consommation. Dans le cas présent, il peut provenir :

- soit d'un nombre trop élevé de bactéries saprophytes dans la chair

- soit d'une multiplication de bactéries pathogènes éventuellement présentes ou de la production de toxines généralement élaborées lors de la phase de croissance

- soit de la formation en trop grande quantité de certaines amines, notamment histamine, à la suite des décarboxylations d'origine bactérienne, surtout à partir de certains substrats riches en histidine (muscle rouge des thons, maquereaux ou sardines).

- Sur le plan qualitatif, il n'a y pas de différence de comportement de la flore à +4°C et à +20°C

Ces deux températures peuvent être considérées, en pratique, comme points limites utilisés en décongélation : au-dessous de +4°C, la durée risque d'être excessivement longue; au-dessus de +20°C, la chair du poisson ainsi traitée a tendance à se ramollir (KARSTI 1965; MERRITT 1969).

Dans ces limites, on peut donc admettre que la température n'a pas d'influence sur le comportement de la flore puisque celle-ci est composée essentiellement de germes psychrotrophes qui se développent normalement à +4°C mais dont la température optimale de croissance se situe aux environs de 25°C (ANAND et RUDRA SETTY 1977).

- Quelle est la conséquence dans le cadre de la réglementation française actuelle?

La température entre 0°C et +4°C a l'avantage de limiter la croissance bactérienne dans le cas des produits volumineux longs à décongeler même à +20°C. De la même façon, elle limite donc ou même inhibe dans la majorité des cas la multiplication de bactéries pathogènes éventuellement présentes.

En revanche, compte-tenu de la durée importante de l'opération, une croissance bactérienne est inévitable, soit pendant la décongélation elle-même, pour les plaques de 100 mm par exemple (flore saprophyte), soit à l'état décongelé pendant le traitement ou l'attente dans l'usine (flore saprophyte et flore pathogène éventuellement présente).

Dans les cas où les durées de décongélation sont inférieures à celles nécessaires pour une plaque de 65 mm (poissons individuels de petite taille, par exemple), les décongélations en air calme, aussi bien à +4°C qu'à +20°C d'ailleurs, peuvent être envisagées sans risque du fait de l'existence d'un "temps de latence".

Remarques :

Signalons que l'action des facteurs inhérents à la matière première n'a pas fait l'objet d'étude particulière, notre but étant de vérifier l'existence d'un temps de latence pour les matières premières, de provenances diverses, ayant subi les conditions susceptibles d'être rencontrées dans la pratique. Cependant, les situations qu'on peut mettre en parallèle dans les séries d'expérience laissent apparaître assez peu de différence.

2. Décongélation du thon

A l'exception du listao, de poids généralement inférieur à 5 kilogrammes, le thon constitue un problème particulier pour l'industrie de transformation, en raison de la masse à décongeler et de la morphologie de ce poisson. Or, actuellement en France, la majorité du tonnage de thon* traité en conserverie provient de bateaux-congélateurs.

Nous avons tenté de mesurer les conséquences qu'entraîne l'utilisation de la méthode de décongélation en air calme en application au thon entier.

a) Rappel des conditions utilisées

Quatre lots de poissons de taille différente ont été utilisés :

- lot A : Listao , poids moyen 3,700 kg
- lot B : Albacore, poids moyen 3,700 kg
- lot C : Albacore, poids moyen 20 kg
- lot D : Albacore, poids moyen 40 kg

Ils ont été décongelés dans des chambres réglées à +4°C et +20°C (air calme).

b) Décongélation et qualité bactériologique

α) Durée de décongélation

Les courbes d'enregistrement des températures à coeur de -20°C à 0°C nous donnent les durées de décongélation en fonction du poids des échantillons traités (figure 24).

* Nous ne considérons ici que les espèces ayant droit à l'appellation "thon" en France : germon ("thon blanc") - thon rouge - albacore - patudo et listao

Pour un thon moyen (environ 40 kgs), on relève approximativement :

- Air calme à +20°C : 2 jours
- Air calme à + 4°C : 6 jours

La vitesse de décongélation est donc trois fois plus grande en élevant la température de +4°C à +20°C.

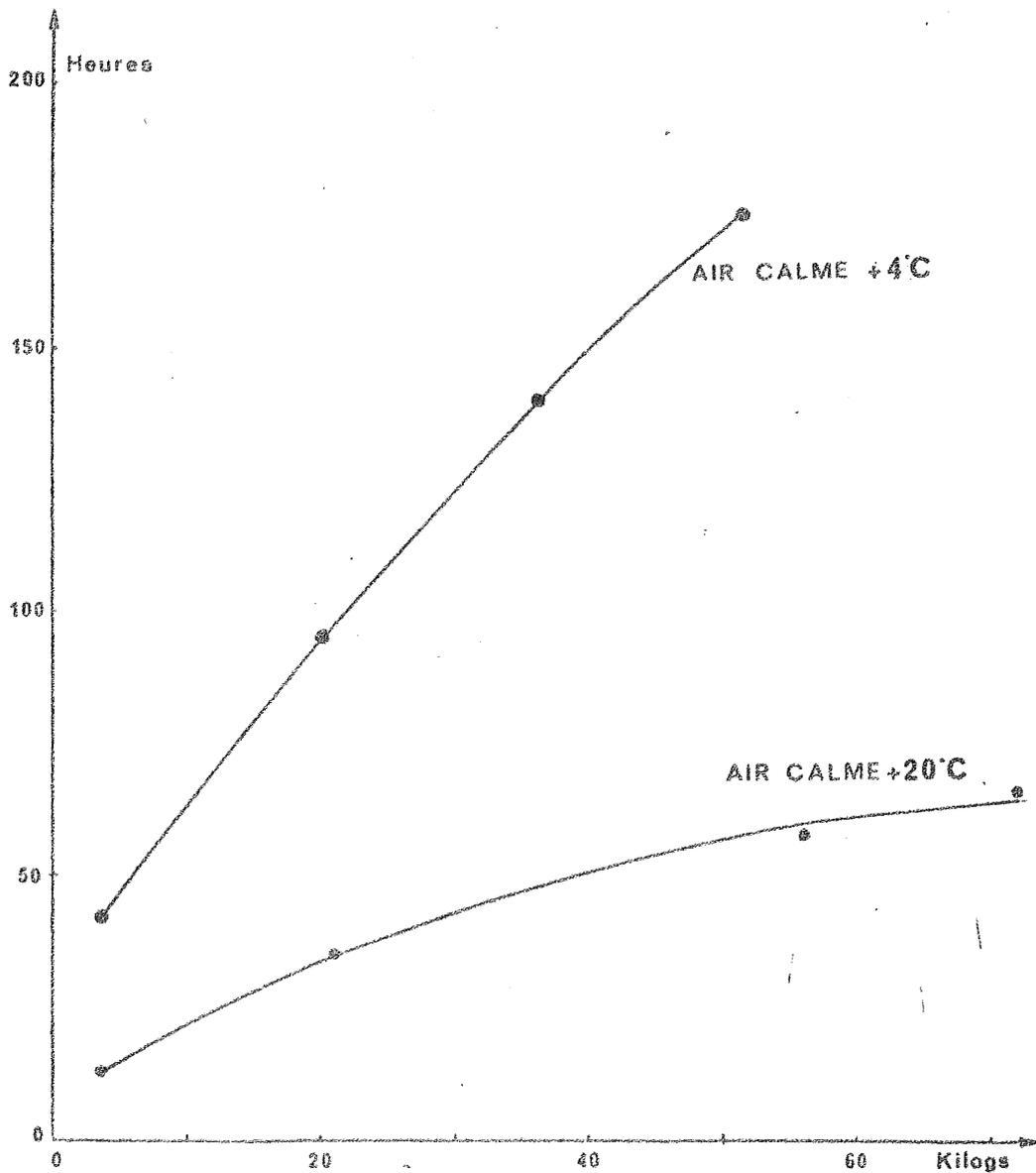


Fig 24 : courbes de durées de décongélation en air calme des thons (albacore) en fonction de leur poids.

(3) Qualité bactériologique

- Pour les thons de 3,700 kgs

Valeurs mesurées :

Les prélèvements effectués ont donné les valeurs suivantes
(valeurs en log décimal/cm² arrondies à 0,25 près) :

	Thons "A"	Côté face	Côté pile	d = "B" - "A"	
		Etat congelé	Etat décongelé	+	-
Décongélation + 4°C	1	4,75	5,00	0,25	
	2	5,25	4,25		1,00
	3	4,50	5,50	1,00	
	4	4,50	6,25	1,75	
	5	5,00	5,00		0
	6	4,75	4,00		0,75
	7	3,75	5,50	1,75	
	8	4,50	6,25	1,75	
	9	4,50	6,25	1,75	
Décongélation +20°C	10	5,00	6,50	1,50	
	11	3,50	4,50	1,00	
	12	4,25	5,00	0,75	
	13	5,25	4,75		0,50
	14	5,25	5,50	0,25	
	15	4,00	4,75	0,75	

Pour la décongélation à +4°C, aucune différence significative par rapport à l'état congelé n'a pu être observée, dans les conditions utilisées.

Tests	Valeurs obtenues	Valeurs-seuils	Conclusions
WILCOXON	$T_+ = 30,5$ $T_- = 5,5$	$p=0,05 \rightarrow t=4$	$T_- > t$ La décongélation n'entraîne pas de modification
paramétrique (séries appariées)	$t' = 1,925$	$\alpha=0,05 \rightarrow t_{\alpha} = 2,306$	$t' < t_{\alpha}$ Les 2 séries sont issues de la même population

Pour la décongélation à +20°C, aucune différence significative par rapport à l'état congelé n'a pu être observée.

Tests	Valeurs obtenues	Valeurs-seuils	Conclusions
WILCOXON	$T_+ = 19,0$ $T_- = 2,0$	$p=0,05 \rightarrow t=0$	$T_- > t$ pas de modification
paramétrique (séries appariées)	$t' = 2,23$	$\alpha=0,05 \rightarrow t_{\alpha} = 2,57$	$t' < t_{\alpha}$ séries issues de la même population

Malheureusement, l'effectif limité d'individus ne nous a pas permis d'augmenter le nombre de mesures; c'est dommage car, dans ces deux cas précis, la démarche eût été fort intéressante.

En effet, si on avait traité les deux exemples précédents par le test des signes au lieu de celui de WILCOXON pour le test non paramétrique, on aurait obtenu :

- pour la décongélation à +4°C : une différence significative par rapport à l'état congelé (après avoir éliminé le thon 5 où la différence est nulle)

- pour la décongélation à +20°C : une différence significative par rapport à l'état congelé.

Bien que les deux tests soient valables pour cet exemple, lorsque la situation le permet, il est préférable d'utiliser la méthode de WILCOXON; celle-ci est beaucoup plus parlante puisqu'elle utilise mieux les informations sur les échantillons, alors que le test des signes n'en retient qu'une partie.

Quoiqu'il en soit, on peut admettre que les décongélation en air calme aussi bien à +4°C (durée = 43 heures), qu'à +20°C (durée = 13 heures) ne modifient pas, ou modifient très faiblement la flore aérobie quantitative.

Ces résultats sont comparables à ceux obtenus sur les petits thons par MITSUMURA (1969) qui :

- lors de la décongélation à température ambiante pendant la même période, ne constate pas de prolifération de la population bactérienne viable,

- lors de la décongélation sous glace, observe un léger accroissement durant les 48 heures de maintien dans ces conditions.

- Pour les thons de 20 kgs

Valeurs mesurées :

Les prélèvements effectués ont donné les valeurs suivantes (valeurs en log décimal/cm² arrondies à 0,25) :

	Thons "A"	Côté face		Côté pile		d = "B" - "A"	
		Etat congelé	Etat décongelé	Etat congelé	Etat décongelé	+	-
Décongélation +4°C	1	1,75		1,50			0,25
	2	1,75		2,00		0,25	
	3	2,75		2,25			0,50
	4	2,50		1,75			0,75
Décongélation +20°C	5	2,25		2,25		0	
	6	2,25		2,25		0	
	7	2,50		1,25			1,25
	8	2,25		1,00		1,25	

Pour la décongélation à +4°C, aucune différence significative par rapport à l'état congelé n'a pu être observée, dans les conditions utilisées.

Tests	Valeurs obtenues	Valeurs-seuils	Conclusions
signes	$k' = 3$	$\alpha=5\%$ $k_S = 4$	$k' < k_S$ séries issues de la même population
paramétrique (séries appariées)	$t' = 1,46$	$\alpha=5\%$ $t_{\alpha} = 3,19$	$t' < t_{\alpha}$ séries issues de la même population

Pour la décongélation à +20°C, aucune différence significative n'a été observée.

Tests	Valeurs obtenues	Valeurs-seuils	Conclusions
signes	$k' = 1$	$k_s = 4$	$k' < k_s$ séries issues de la même population
paramétrique (séries appariées)	$t' = 0$	$\alpha = 5\%$ $t_{\alpha} = 3,18$	$t' < t_{\alpha}$ séries issues de la même population

Malgré les durées importantes nécessaires à la décongélation à +4°C (95 heures) et à +20°C (35 heures), aucune croissance bactérienne n'est observable. Signalons tout de même que la contamination initiale du lot était très faible.

En outre, nous avons remarqué lors du prélèvement que la peau du poisson était très sèche; en effet, si l'humidité due à la fonte du givre et à l'exsudation peut être importante en surface au début de la décongélation, on constate que la peau du poisson se déshydrate après 2 jours à +4°C et dès 24 heures environ à +20°C.

- Pour les thons de 40 kgs

Valeurs mesurées :

Les prélèvements effectués ont donné les valeurs groupées dans le tableau de la page suivante (valeurs en log décimal/cm² arrondies à 0,25 près).

	Etat congelé	Etat décongelé à +4°C	Etat décongelé à +20°C
		5,00	4,75
	4,75	4,50	5,00
	5,00	5,00	5,25
	5,00	5,00	4,50
	4,75	4,50	5,00
	4,25	-	5,25
	5,00		
	4,75		
	4,75		
Moyenne	4,805	4,75	5,33
Variance estimée	0,059	0,0325	0,342
Nombre de mesures	9	5	6

Pour la décongélation à +4°C, aucune différence significative par rapport à l'état congelé n'a pu être observée.

Tests	Valeurs obtenues	Valeurs-seuils	Conclusions
MANN et WHITNEY	$U_A = 19$ $U_B = 26$ $m_u = 22,5$	$\alpha = 0,05$ $U_S = 7$	$U_S < U_A < m_u$ pas de différence entre les 2 séries
Comparaison de moyennes			
Test de F	$F' = 1,06$	$\alpha = 0,05$ $F_S = 3,84$	$F' < F_S$ les 2 variances sont identiques
STUDENT	$t' = 0,40$	$\alpha = 0,05$ $t_S = 2,179$	$t' < t_S$ pas de différence significative entre les moyennes

Pour la décongélation à +20°C, une différence significative par rapport à l'état congelé a été mise en évidence pour un risque de 5%.

Tests	Valeurs obtenues	Valeurs-seuils	Conclusions
MANH et WHITNEY	$U_A = 44$ $U_B = 10$ $m_u = 27$	$\alpha = 0,05$ $U_S = 10$	$U_S = U_B < m_u$ les deux séries sont différentes au risque de 5 %
Comparaison de moyennes			
Test de F	$F' = 5,79$	$\alpha = 0,05$ $F_S = 3,69$ $\alpha = 0,01 \quad F_S = 6,63$	$F' > F_{0,05}$ les variances sont différentes au risque de 5 %
DARMOIS	$t = 2,095$	$\alpha = 0,05$ $R = 3,16$	$t < R$ pas de différence significative entre les 2 moyennes

Contrairement à ce que nous nous attendions, la flore aéro-bie dénombrée au bout de 6 jours environ n'a pas varié à +4°C. A +20°C, elle a augmenté faiblement.

Là encore, la peau du thon était déshydratée au moment du prélèvement.

Bien que la contamination observée à la fin de la décongélation à +20°C en air calme reste assez faible, la basse température utilisée pour la décongélation à +4°C peut contribuer fortement à limiter la multiplication bactérienne, surtout dans le cas des poissons tropicaux (DISNEY et coll. 1974; CANN 1974).

c) Discussion

Bien qu'on n'observe pas de multiplication intense à la surface du thon comme dans le cas de la sardine, ni d'odeur "d'altération" prononcée au cours des opérations, divers inconvénients découlant de la durée nécessaire, amènent à déconseiller la décongélation en air calme, particulièrement pour les thons volumineux; en effet :

- la qualité organoleptique de la chair est grandement diminuée surtout à la périphérie du poisson (CREPEY et MAILLIARD 1974). Ces résultats ont été obtenus dans notre laboratoire sur un lot important de poisson traité en usine .

les liaisons entre les myotomes deviennent lâches lorsque la décongélation est trop longue, surtout au niveau de la partie la plus épaisse du thon (alors que la chair du thon de bonne qualité de fraîcheur est serrée)

l'apparition d'histamine (qui peut se former aussi bien à +4°C qu'à +20°C) (EDMUNDS et EITENMILLER 1975) risque dans certaines conditions, d'atteindre des concentrations dangereuses particulièrement à température élevée.

- la surface des locaux nécessaire à la décongélation du poisson doit être en outre importante

Mais la difficulté peut être tournée en découpant le thon encore congelé en tranches d'épaisseur correspondante à la hauteur des boîtes de conserve (31 à 49 mm).

La façon de procéder ensuite varie avec le type de fabrication :

- pour le thon à l'huile

Le poisson, débité en tranches, peut être cuit à l'état congelé : cette pratique peut être valable pour les lots de taille relativement petite où une éviscération est faite à bord. Dans le cas contraire, une décongélation préalable est nécessaire si l'on veut éviter de cuire le muscle en même temps que la partie viscérale.

- pour le thon au naturel

Les tranches doivent être décongelées pour faciliter le parage, et respecter les barèmes de stérilisation qui sont établis en fonction d'une matière première dont la température initiale est positive.

En dehors de l'investissement dû à l'achat de la scie, le principal inconvénient semble être dû à la diminution du rendement au découpage à l'état congelé.

En revanche, les durées nécessaires dans ces conditions, sont réduites au maximum (épaisseur de 49 mm) à :

- 7h30 : pour la décongélation à +20°C

- 20h45: pour la décongélation à +4°C

3. Conclusions

Sardine

Les courbes d'évolution de la flore aérobie lors de la décongélation nous ont permis de montrer qu'il existe un temps de latence assez important aussi bien à +20°C qu'à +4°C.

Malheureusement, les durées de décongélation nécessaires rendent la prolifération bactérienne ultérieure inévitable pendant le traitement des produits une fois décongelés.

Or, qualitativement, ce sont les mêmes germes qui se développent à +20°C et à +4°C.

Si, tout en maintenant une température assez élevée, les échanges avec le médium étaient accélérés, la diminution de la durée de décongélation qui en résulterait, serait alors hautement bénéfique, à condition que l'évolution de la flore à +20°C soit peu modifiée.

Tel sera le but essentiel de la troisième partie du travail expérimental.

Thon

Malgré le cadre limité de l'étude, nous nous sommes heurtés à des difficultés dues à l'insuffisance du lot (thons de 3,700 kgs), et à une contamination initiale faible (thons de 20 kgs).

Pour les thons de 40 kgs, la contamination bactérienne n'a pas varié à l'issue de la décongélation à +4°C; curieusement, à la fin de la décongélation à +20°C, elle n'a augmenté que faiblement :

la déshydratation en surface, causée par un séjour prolongé en chambre, pourrait être en grande partie responsable de ce comportement

celui-ci sera comparé aux résultats obtenus par l'utilisation d'autres méthodes, notamment l'air pulsé.

Malgré tout, les inconvénients qu'entraînent les durées de décongélation nécessaires, rendent profitable un découpage du thon à l'état congelé.

III - DECONGELATIONS RAPIDES OU TRES RAPIDES

Comme nous l'avons vu précédemment, la décongélation à l'air ambiant par convection naturelle est longue et ne donne pas entière satisfaction sur le plan hygiénique. En outre, elle exige beaucoup d'espace, et une dépense de main d'oeuvre. Pourtant, c'est la méthode la plus souvent utilisée en France à cause de l'absence de coût d'équipement.

En revanche, son utilisation est presque impossible dans certains cas, notamment pour les traitements à grande échelle.

Des critiques semblables peuvent être formulées pour la décongélation en air calme à +4°C.

Un certain nombre de méthodes peuvent être employées à l'échelle industrielle : air ventilé humidifié, eau, vapeur d'eau sous vide, contact ou des méthodes électriques (haute fréquence, ondes ultra-courtes).

Dans certains cas, deux méthodes peuvent être combinées.

Nous avons donc cherché à connaître les conséquences de l'utilisation des principales autres méthodes industrielles que l'air calme sur l'évolution de la population bactérienne de la sardine et du thon.

Les méthodes suivantes ont été testées :

- Air pulsé humidifié
- Immersion dans l'eau
- Vapeur d'eau sous vide
- Hyperfréquences

1. Décongélation des plaques

a) Air pulsé humidifié

α) Conditions utilisées

* Matières premières

Les sardines utilisées pour les essais bactériologiques possédaient les caractéristiques suivantes :

. Expérience A

- Sardines anciennes (3 à 4 mois d'entreposage)
- Lieu : Atlantique
- Date : novembre
- 1 jour sous glace
- Tissus "bon"
- Entreposage : -20°C

. Expérience B

- Sardines récentes (1 semaine d'entreposage)
- Lieu : Méditerranée
- Date : mars
- 1 jour sous glace
- Tissus "médiocre"
- Entreposage : -20°C

* Décongélation

Pour les essais, les poissons étaient posés sur l'une des étagères du chariot, les autres supportaient des plaques de gélose congelées et entreposées à -20°C (de mêmes dimensions que celles de sardines).

β) Décongélation et évolution bactérienne

Les durées nécessaires pour obtenir une décongélation à coeur des plaques de sardines selon différentes conditions utilisées sont groupées dans le tableau ci-dessous.

TABLEAU XIV

Durées de décongélation des plaques de sardines à l'air pulsé

Taille (nbre/kg)	Épaisseur des plaques (mm)	Température de décongélation (°C)	Vitesse de ventilation	Humidification (%)	Durée (h)
20 à 30	65	12	petite	100	4.45
		12	grande	100	3.25
		12	grande	sans	5.20
		20	grande	100	2.15
9 à 10	65	20	grande	100	3.00
	100	20	grande	100	3.00

Pour une même plaque de 65 mm d'épaisseur de petites sardines, la durée de décongélation passe de 2h15 à +20°C à 3h25 à +12°C (pour une grande vitesse de ventilation et une humidité relative de 100%).

L'augmentation de la vitesse de ventilation dans les conditions utilisées accélère les échanges.

L'humidification des produits est indispensable car, outre le mauvais échange entre le fluide ambiant et la masse de chair à décongeler, le poisson se déshydrate en surface (perte de qualité et perte de poids).

Compte tenu de la qualité des produits et de la vitesse d'échange, les conditions adoptées pour les essais ultérieurs furent les suivantes :

- Vitesse d'air : grande
- Humidité relative : 100%
- Température : 20°C

L'évolution bactérienne à l'issue de la décongélation des plaques (55 mm) de petites sardines a été suivie pour deux lots distincts. Les courbes obtenues sont figurées ci-dessous : (figures 25 et 26).

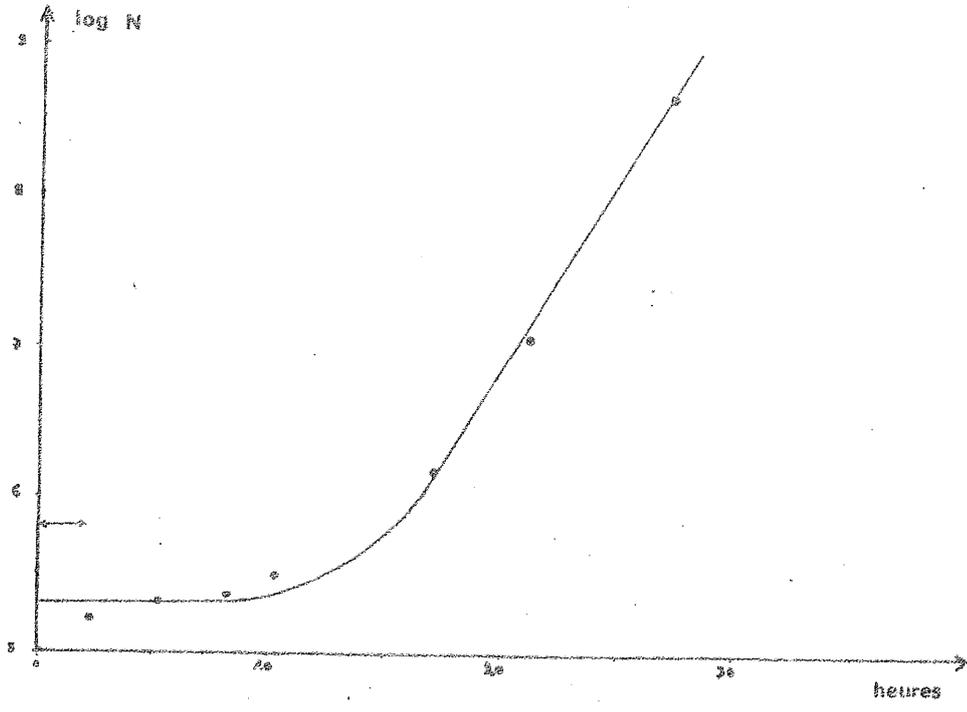
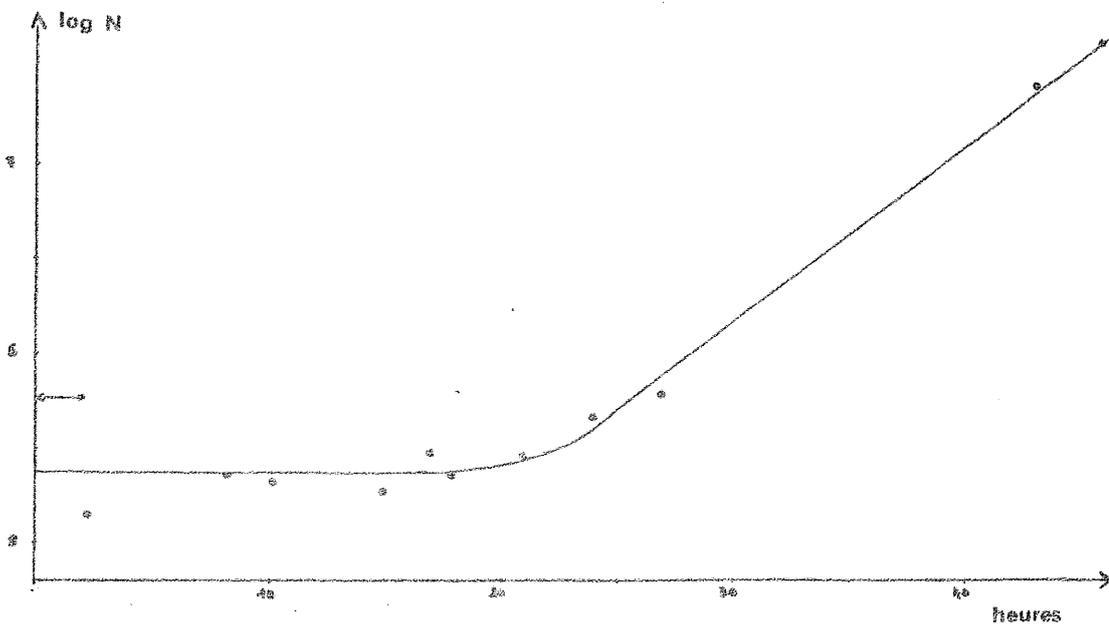


Fig 25 et 26 : courbes d'évolution de la flore aérobie lors du maintien à +20°C après décongélation à l'air pulsé à +20°C.



Nous constatons que pour une durée de décongélation assez brève (2h00), la phase de latence à +20°C reste relativement importante : 11 h (sardines récentes) et 18 h (sardines anciennes) environ pour la flore totale (temps de latence réel).

Ainsi, l'absence de multiplication déjà observée dans la partie précédente semble faiblement liée à la vitesse de décongélation due à la méthode utilisée. Nous sommes donc en présence d'un processus surtout biologique.

En outre, si à l'issue de la décongélation (2h00), ces mêmes échantillons sont laissés à +3°C au lieu de +20°C, les courbes d'évolution correspondantes (figure 27 et 28) montrent que la durée de latence peut être multipliée par deux fois et demi environ.

Du point de vue bactériologique, l'efficacité de la décongélation par air pulsé humidifié a été attestée par Mac CALLUM et MERRITT (1969) dans une étude anglo-canadienne. Ainsi, ces deux auteurs, en travaillant sur des blocs de poisson entier congelé en mer, publient que la moyenne des dénombrements effectués juste après décongélation de centaines d'échantillons (4 heures et demi à +20°C) est approximativement de 400 000 germes par cm^2 . Précisons cependant que la décongélation était volontairement incomplète. En effet, en Angleterre les blocs de 100 mm d'épaisseur ne sont décongelés qu'à 70% environ afin de s'adapter au cycle de traitement de l'usine, qui comporte un délai d'une nuit avant le filetage.

Y) Discussion

Ces essais nous ont permis de confirmer l'existence d'un temps de latence relativement important, même si la durée de remontée en température est assez brève.

Une décongélation rapide est donc préférable même si une température assez élevée doit être utilisée pour accélérer les échanges thermiques. La marge de sécurité ainsi obtenue peut être mise à profit pour les traitements postérieurs avant stabilisation ou stérilisation du produit fini.

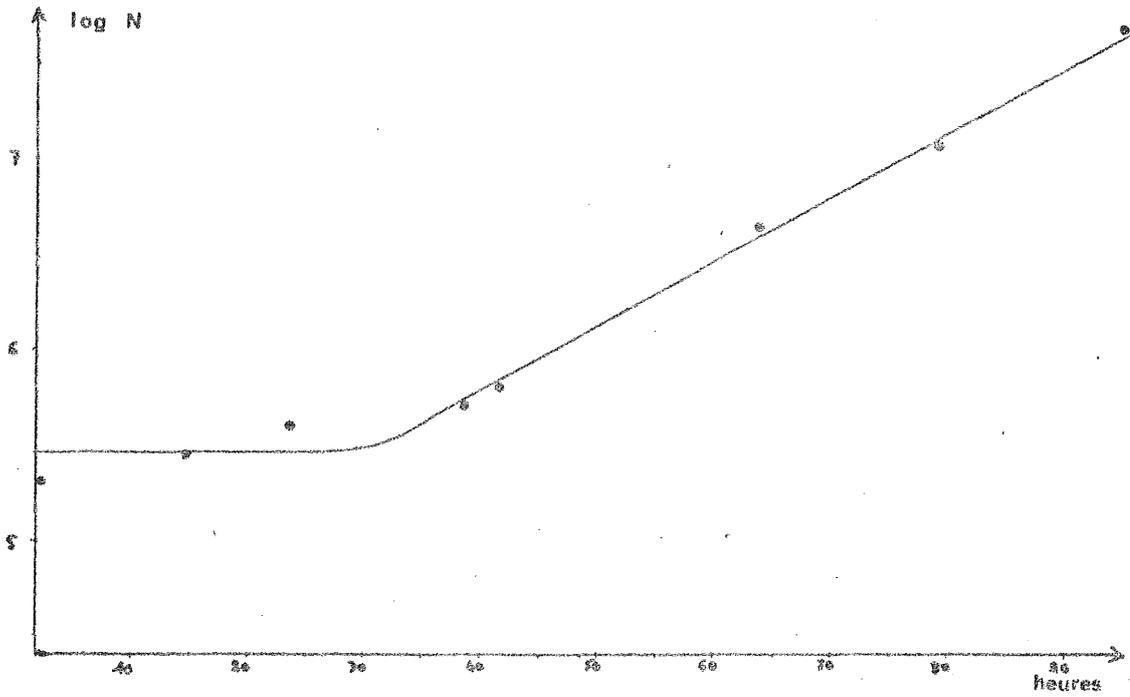
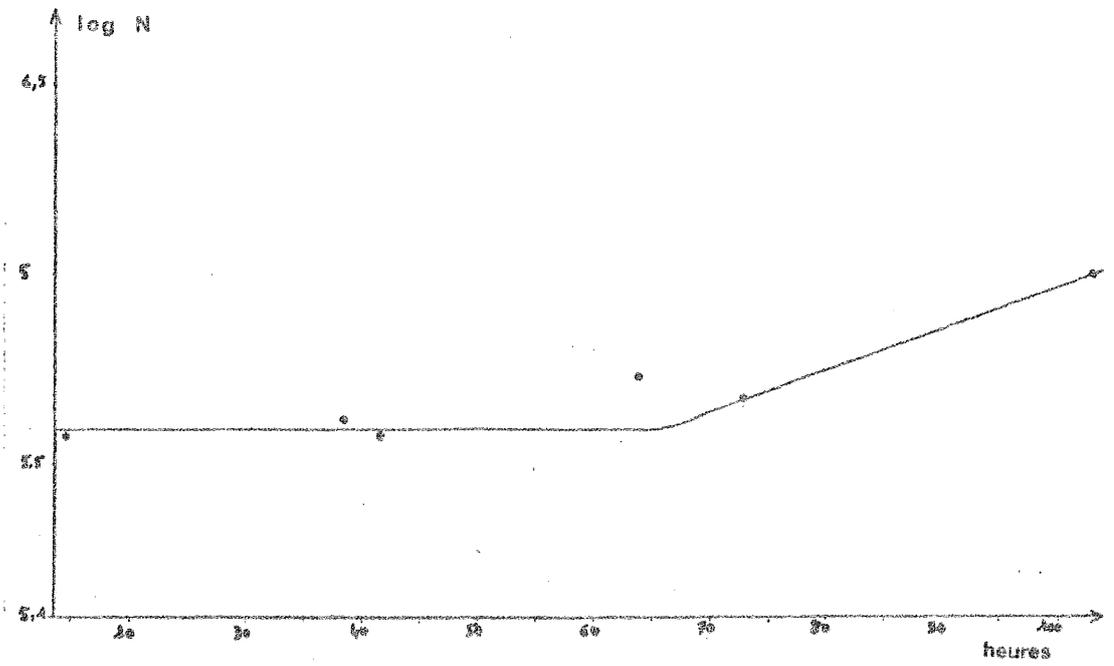


Fig 27 et 28 : courbes d'évolution de la flore aérobie lors du maintien à +3°C après décongélation à l'air pulsé à +20°C.



b) Eau

D'une manière générale, les décongélation à l'eau amènent une légère diminution de la charge microbienne de surface des produits, par le fait que l'eau utilisée est moins contaminée que les poissons.

Par contre, dans les systèmes à recyclage, l'eau risque, après un certain temps, de constituer un milieu de développement susceptible de retransmettre à son tour les germes au poisson.

Selon la proposition de directive de la C.E.E. relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine, l'eau utilisée dans l'industrie alimentaire peut être classée en quatre catégories, selon l'usage à laquelle elle est destinée.

(1) L'eau qui, normalement, n'entre pas en contact avec les aliments.

(2) L'eau qui, bien qu'entrant dans la préparation d'aliments, subit néanmoins plus tard, en même temps que l'aliment un traitement ayant un effet bactéricide marqué.

(3) L'eau entrant en contact avec les aliments et pouvant par là transmettre la totalité de sa microflore à l'aliment et infecter ainsi dans une large mesure de tels produits.

(4) L'eau, comme celle de la catégorie (3), mais en étant bien entendu que primordialement ce n'est pas l'eau qui contamine le produit mais ce dernier plutôt qui contamine l'eau, qui peut, à son tour, transmettre les micro-organismes.

Considérant que l'eau utilisée dans la décongélation doit être de qualité potable, on a affaire, dans le cas présent, à la catégorie (4) de ce type de classement. En effet, l'eau potable contient des micro-organismes dits oligotrophes, qui sont en général des bactéries psychrotrophes, Gram négatif et non pathogènes. Le dénombrement des colonies à 20-22°C est seulement de l'ordre de $10^2 - 10^3$ /ml (DUCLUZEAU 1975).

Pour la décongélation, en l'absence de directives, nous nous sommes fixés les exigences suivantes :

- la charge microbienne maximale admise, en partant initialement d'une eau de qualité potable, doit être telle que la microflore quantitative du poisson n'en soit pas réellement influencée

- les bactéries transférées dans l'eau ne doivent pas être en phase de croissance.

Nos essais avaient donc pour but d'évaluer les conséquences, sur la qualité bactériologique des plaques de poisson, dues à la décongélation à l'eau sous diverses conditions.

Nous n'avons considéré que la décongélation par circulation d'eau à volume constant. La décongélation à eau perdue n'est pas à considérer ici : dans ce cas, en effet, le volume d'eau utilisé dépend du temps de décongélation; elle reste donc très peu de temps au contact du produit.

Cette méthode a le désavantage d'exiger beaucoup d'eau et de délayer le poisson; ce phénomène est appelé lixiviation. Aussi les méthodes les plus utilisées se font à volume constant en veillant à ne pas dépasser 3 à 4 fois le volume ou la masse du poisson.

En outre, les décongélation de courte durée rendent possible la réalisation de plusieurs opérations au cours de la journée de travail de l'usine, et permettent ainsi un fractionnement du lot traité à décongeler, donc une réduction d'encombrement.

Pour des raisons d'économie, l'industriel peut être tenté de réaliser plusieurs décongélation dans la même eau. Nous distinguerons donc les deux cas dans notre étude.

a) Conditions utilisées

* Matières premières

Les plaques de sardines congelées (65 mm d'épaisseur) provenaient de trois lots différents :

. Lot A

- Lieu : Atlantique
- Date : août
- 1 jour et demi sous glace
- Tissus "bon"
- Entreposage : -20°C pendant 1 semaine

. Lot B

- Lieu : Atlantique
- Date : juin
- 3 jours sous glace
- Tissus "mauvais"
- Entreposage : -20°C pendant 1 semaine

. Lot C

- Lieu : Atlantique
- Date : juin
- 3 jours sous glace
- Tissus "bon"
- Entreposage : -20°C pendant 2 semaines

* Décongélation

. Matériel utilisé : décongélateur à eau du laboratoire

. Conditions :

- pour toutes les décongélations, une proportion d'eau par rapport au poisson a été respectée (4 kg eau/1 kg poisson)
- température de l'eau : 20°C
- eau de ville

* Prélèvement de l'eau

Il est effectué à l'aide d'un flacon stérile, attaché à une ficelle, que l'on immerge dans la cuve de décongélation.

(3) Utilisation de l'eau pour une décongélation

Après décongélation (qui a duré 2 heures environ pour une eau circulant à 20°C), les plaques de sardines ont été placées dans une enceinte d'air recyclé à +20°C.

Les prélèvements bactériologiques effectués au cours du temps nous ont permis de tracer les courbes des figures 29 et 30.

Comme dans le cas de l'air pulsé, nous constatons, que pour une durée de décongélation assez brève, la phase de latence demeure relativement élevée dans les deux lots testés (8h30 et 7h30) permettant de disposer d'une marge de sécurité (temps de latence réel).

Ces résultats vont dans le même sens que ceux obtenus par d'autres auteurs :

- LEARSON (1974) décongèle des blocs de crevettes en 2 heures à +18°C et constate que la contamination à l'état congelé est égale à celle obtenue après décongélation à l'eau.

- Mac CALLUM et MERRITT (1969) observent une contamination peu élevée après immersion dans l'eau à +18°C de grosses plaques de cabillaud pendant quatre heures et demi.

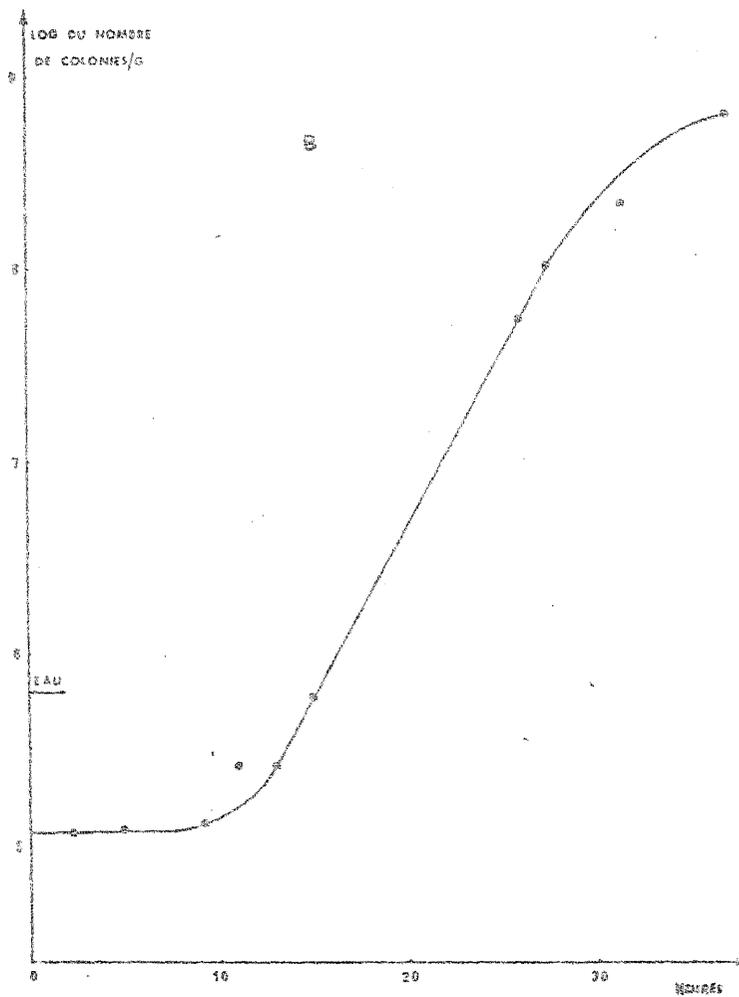
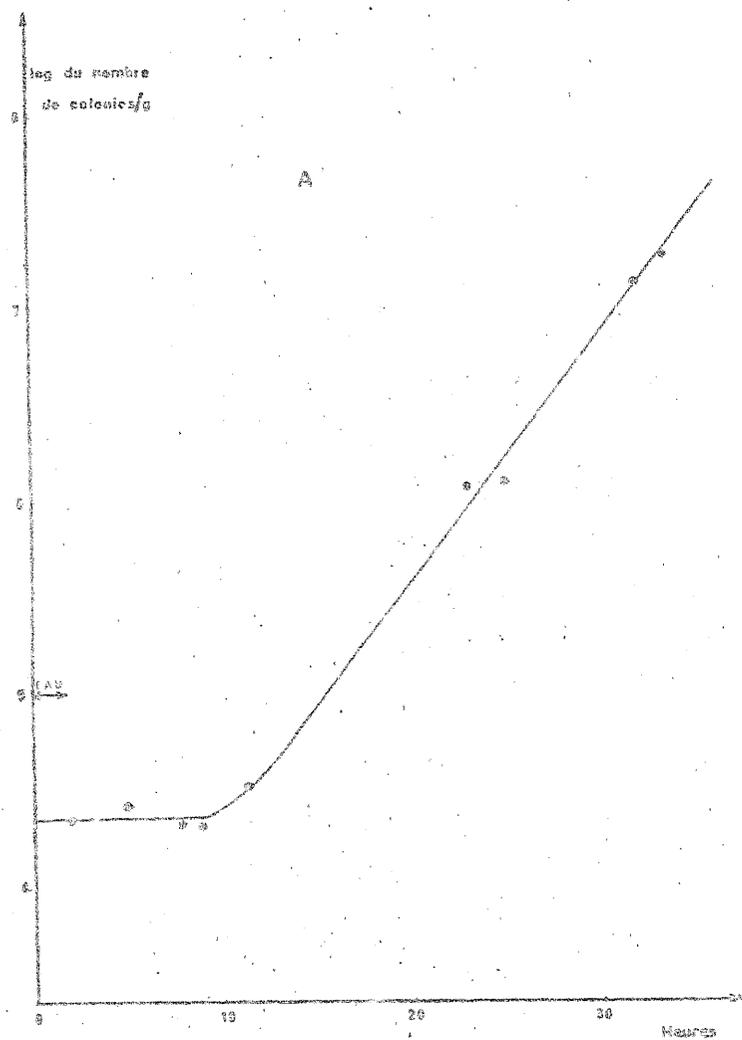


Fig 29 et 30 : courbes d'évolution de la flore aérobie lors du maintien à +20°C après décongélation à l'eau à +20°C.

8) Utilisation de l'eau pour plusieurs décongélation successives

Les essais ont été effectués en réalisant 4 opérations successives de 2 heures chacune (circulation d'eau à +20°C).

Afin de se mettre volontairement dans des conditions défavorables, la même eau a été utilisée le lendemain pour la mise en oeuvre de 2 autres séquences de décongélation successives (5^e et 6^e).

Après chaque séquence, la flore quantitative aérobie de la sardine et celle de l'eau ayant servi à la réchauffer ont été déterminées.

Les dénombrements relevés pour trois lots de sardines distincts sont visualisés sur la figure ci-dessous.

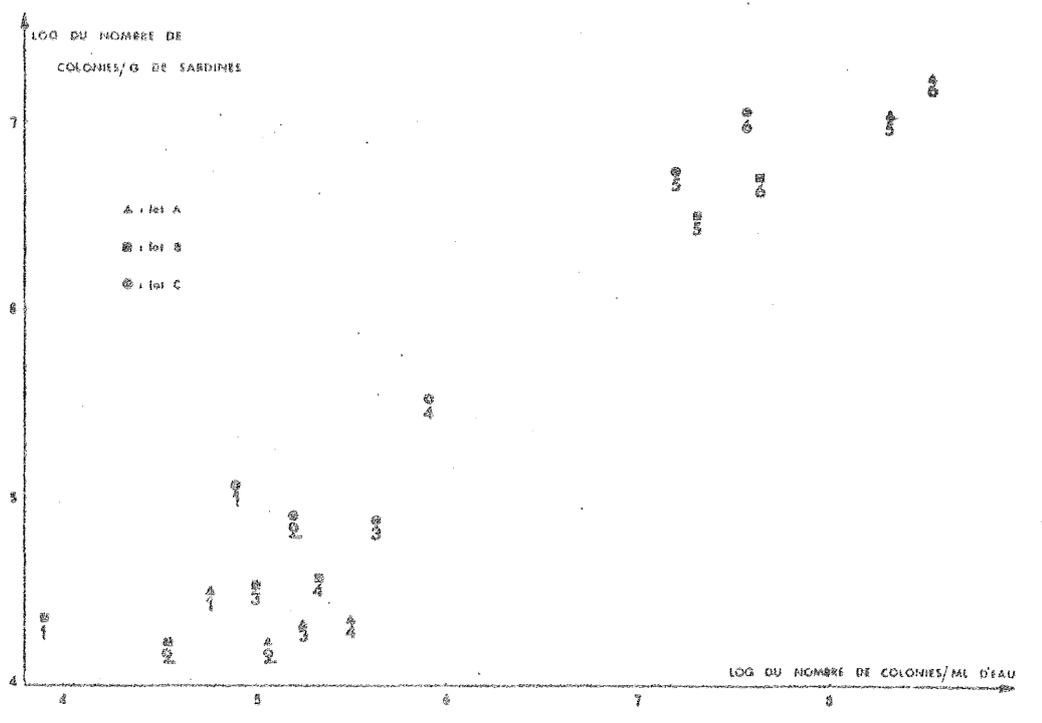


Fig 31 : effet de l'augmentation de la concentration bactérienne dans l'eau en fin de décongélation sur l'état de contamination de la sardine. (Eau non renouvelée - 6 séquences de décongélation)

Bien que l'accroissement de la concentration bactérienne de l'eau dû au transfert des microorganismes du poisson congelé soit régulier, la contamination des sardines décongelées successivement reste pratiquement stable pour les quatre premières opérations (sauf pour la quatrième séquence du lot C). A partir d'une concentration approximative de 6 en logarithme de base 10 dans l'eau, il s'ensuit une augmentation de la contamination de la sardine.

Cependant, l'utilisation de la même eau pour plusieurs décongelations tend à faire disparaître le temps de latence de la courbe d'évolution bactérienne. En effet, lors de la détermination de ces courbes pour les sardines du lot C (figure 32), nous avons constaté l'absence de latence pour les plaques décongelées à l'issue de la quatrième et cinquième opération.

Cette constatation tend à prouver que :

- il y a eu un transfert des bactéries de l'eau de décongelation jusqu'au poisson
- les bactéries présentes dans l'eau étaient en phase de multiplication.

C'est ainsi qu'en suivant l'évolution des microorganismes dans l'eau des flacons prélevée à l'issue des différentes décongelations et incubée à +20°C (température de la décongelation), on constate (figure 33) une multiplication active des bactéries dans l'eau dès la troisième opération.

Cet aspect de la décongelation à l'eau a été surtout étudié par les chercheurs canadiens pour le traitement à terre de gros blocs de poissons congelés à bord.

La qualité de l'eau entre 13 et 20°C est encore acceptable après 6 heures d'immersion (HAYWARD et coll. 1970).

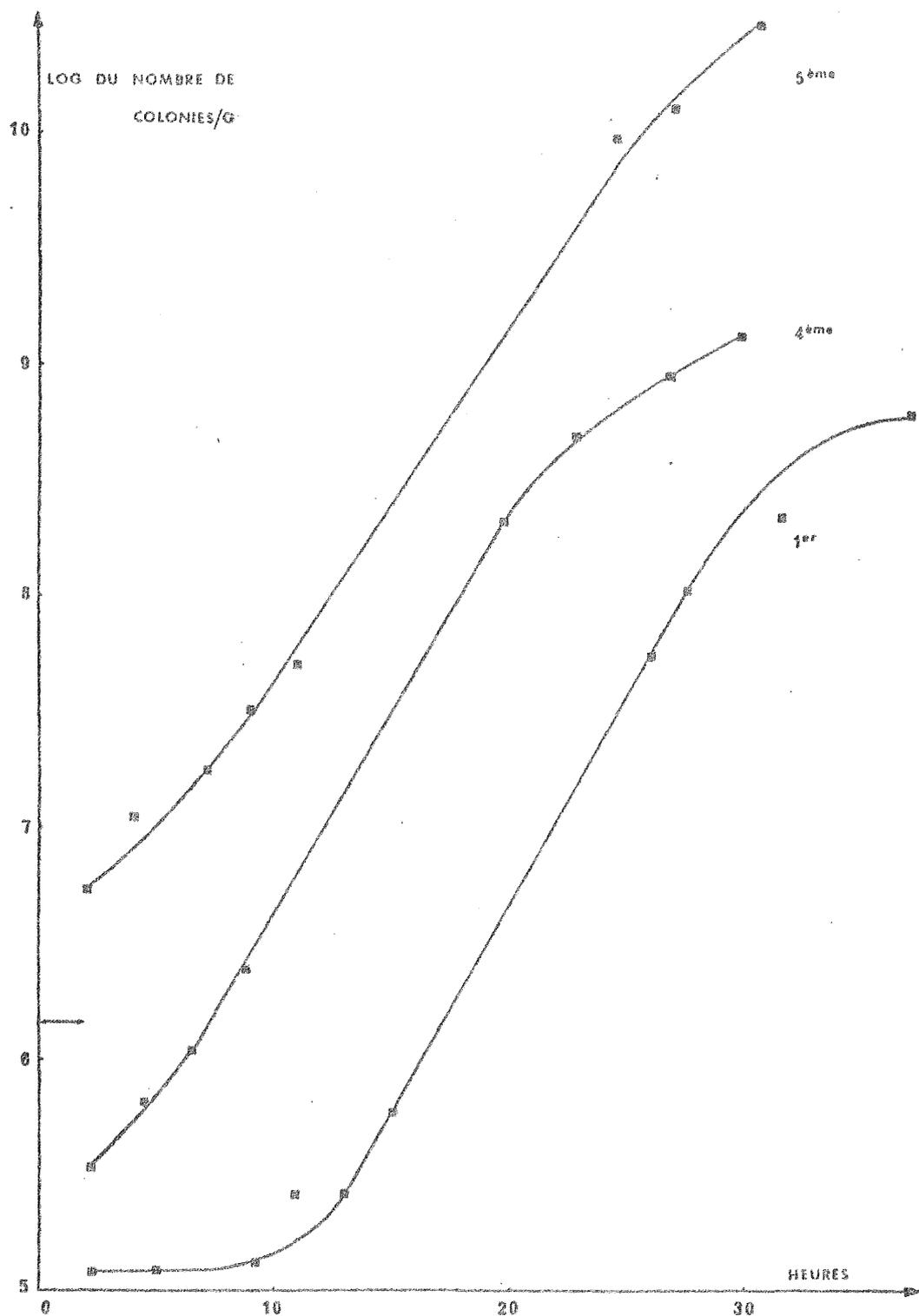


Fig 32 : courbes d'évolution de la flore aérobie de la sardine à +20°C après diverses séquences (1è, 4è et 5è) de décongélation dans l'eau non renouvelée (lot C).

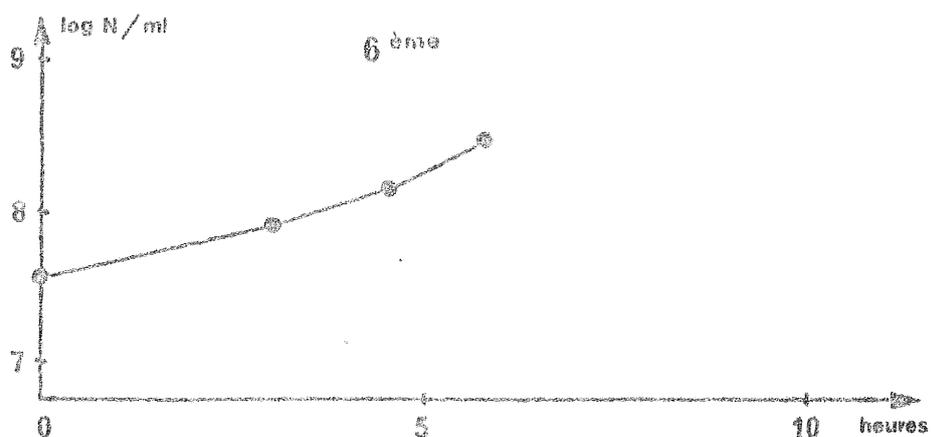
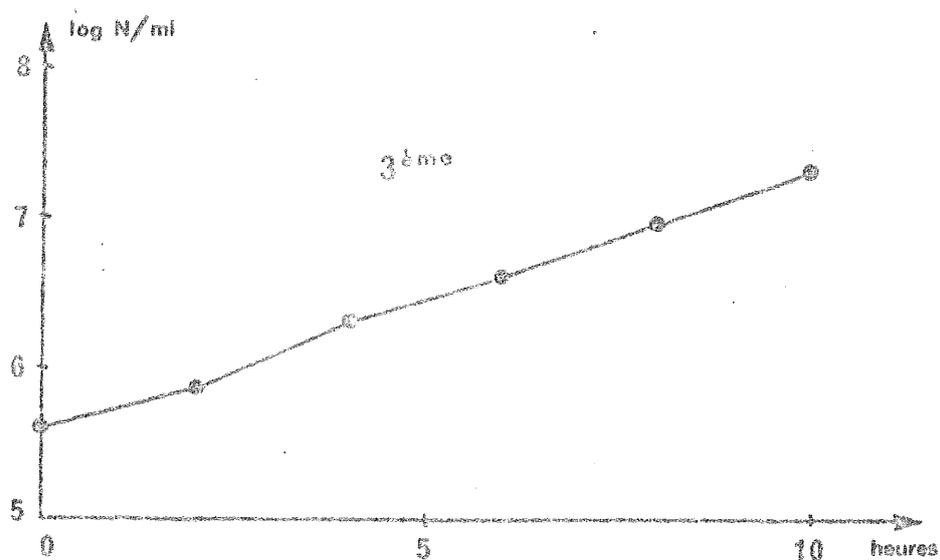
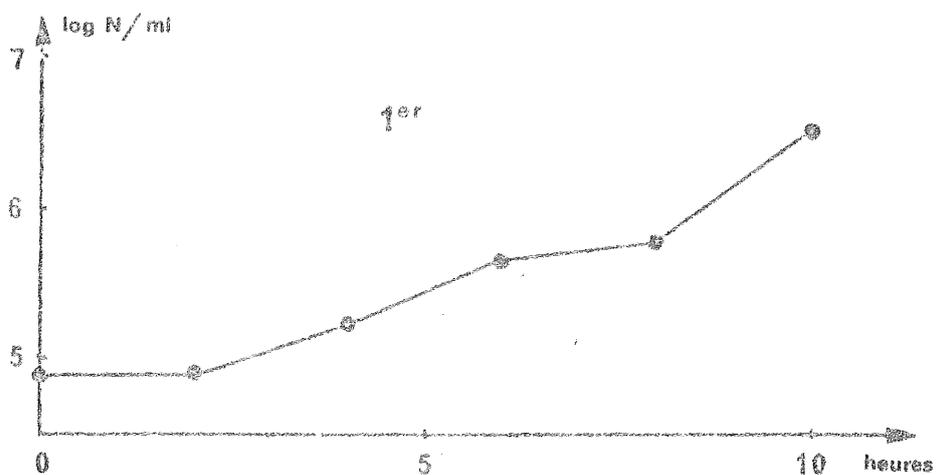


Fig 33 : évolution de la concentration bactérienne dans l'eau des flacons prélevée à l'issue des 1^{er}, 3^{ème} et 6^{ème} décongélations (sardines)

Au cours de la journée de travail, les coliformes apparaissent (Mac CALLUM 1971); cependant, en décongelant 12 heures, soit 2 opérations, sans changement d'eau ou en 22 heures, mais avec renouvellement à 12 heures, le maximum de coliformes dans l'eau n'est que de 3 000/100 ml (Mac CALLUM et MERRITT 1969).

En outre, après filetage, les coliformes sur les filets ne sont jamais élevés (Mac CALLUM 1971) et atteignent un maximum 1 000/100 g (Mac CALLUM et MERRITT 1969), et les coliformes fécaux sont absents (HAYWARD et coll. 1970); Mac CALLUM 1971).

Aussi, ces auteurs préconisent-ils de prendre comme critère d'évaluation du procédé de fabrication, la qualité bactériologique du produit fini (HAYWARD et Mac CALLUM 1969; Mac CALLUM 1971).

f) Discussion

En respectant une proportion d'environ 4 kgs d'eau potable pour un kg de poisson, la décongélation à l'eau peut être considérée comme hygiéniquement acceptable (pour une seule opération).

Cependant, lorsque l'eau utilisée n'est pas renouvelée pour les décongélation suivantes, la phase de latence, de la courbe d'évolution de la flore de la sardine ainsi décongelée, tend à disparaître.

c) Autres méthodes

Parmi les autres méthodes susceptibles d'être appliquées industriellement au poisson, nous avons testé la vapeur sous vide et les hyperfréquences.

α) Vapeur d'eau sous vide (APV)

- Conditions utilisées

* Matières premières

. Plaques de sardines congelées

- Lieu : Atlantique
- Date : mai
- 1 jour sous glace
- Tissus "bon"
- Entreposage : -20°C pendant 1 semaine

(Caractéristique de l'échantillon 5 du tableau VIII)

* Décongélation

- Rapport eau/poisson : 4kg/1kg
- Température : 20°C
- Eau de ville

La durée de décongélation à +20°C est pratiquement égale à celle de l'air pulsé et de l'eau pour les plaques de sardines de 65 mm d'épaisseur, soit environ 2 heures.

A l'issue de ce traitement, les microorganismes du poisson sont encore en phase de latence pendant plusieurs heures avant la croissance exponentielle (figure 34).

Aussi, après deux heures de décongélation, HOUWING (1972) constate que la contamination des crevettes est identique à celle de l'état congelé.

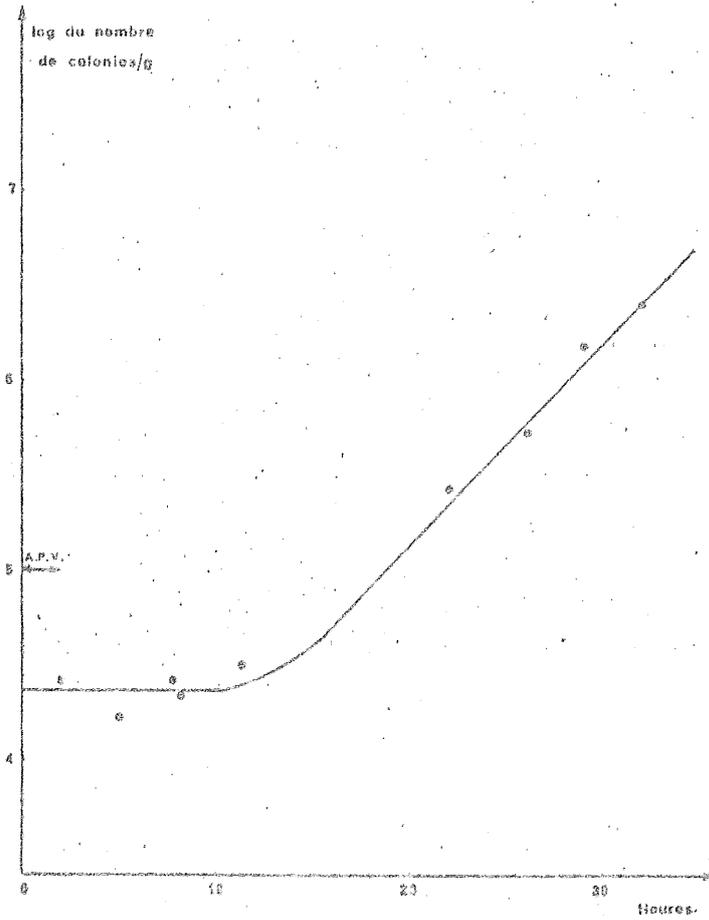
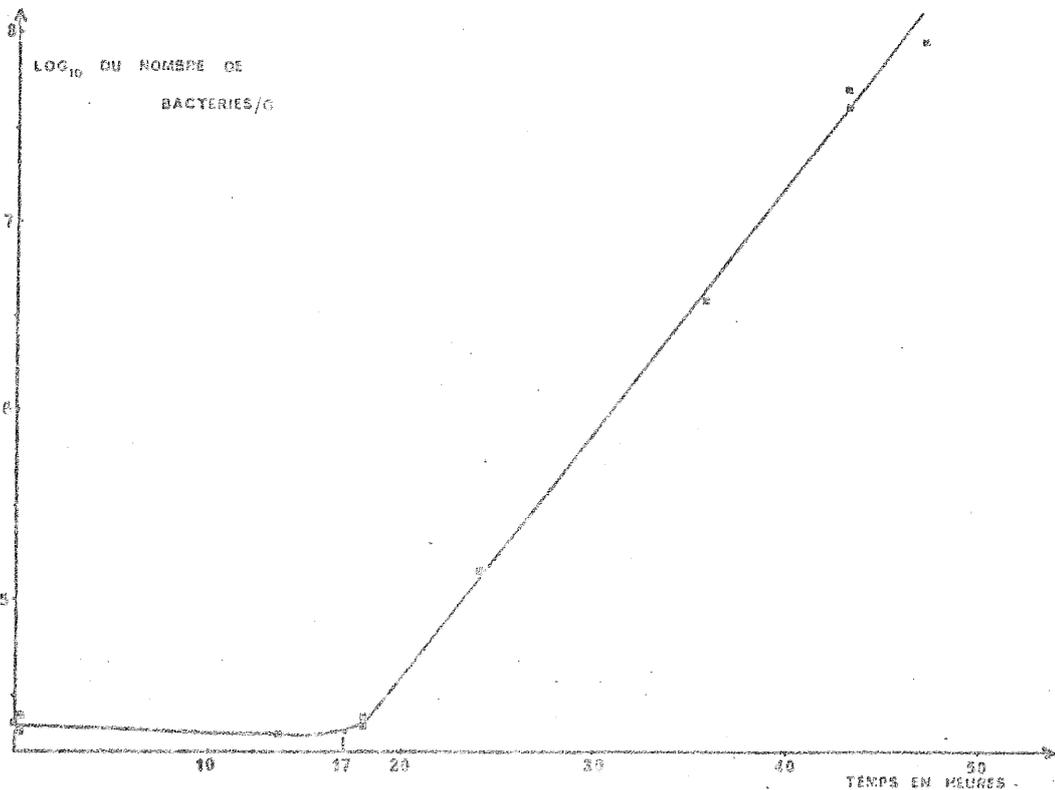


Fig 34 et 35 : courbes d'évolution de la flore aérobie lors du maintien à +20°C après décongélation à vapeur sous vide (en haut) et après décongélation aux micro-ondes (en bas).



(3) Hyperfréquences : (2450 MHz)

- Conditions utilisées :

Nous avons travaillé avec un prototype d'essai basé sur une méthode originale de décongélation par micro-ondes associées à une pulvérisation de liquide cryogénique sous champ électrostatique (brevet français n° 71 13294 de S. BARBINTI).

* Matières premières

. Plaques de sardines congelées

- Lieu : Atlantique
- Date : juillet
- 1 jour sous glace
- Tissus "bon"
- Entreposage : -30°C pendant 3 mois

* Décongélation

- Durée d'exposition : 7 mn
- Potentiel électrostatique : 60 KV

Là encore, la courbe obtenue (figure 35) démontre l'avantage d'une décongélation ultra-rapide.

Compte tenu de la durée très brève de décongélation, LEARSON (1974), en travaillant avec un tunnel à 915 MHz, trouve un niveau de contamination égal pour l'état congelé et pour l'état décongelé.

d) Discussion

La durée de la phase de latence est très peu influencée par le mode de décongélation utilisé, et presque identique à celle observée dans l'air calme à +20°C (une dizaine d'heures ou plus).

En revanche, la durée de décongélation est très fortement abaissée : pour une plaque de 65 mm, les durées sont de 2 heures environ pour l'air pulsé, l'eau et l'APV à +20°C et de 7 mn pour les hyperfréquences (au lieu de 15 heures pour l'air calme à +20°C).

La "marge de sécurité" qui en découle devient alors appréciable.

Dans les quatre cas considérés, les résultats obtenus sont compatibles avec un traitement satisfaisant des produits sur le plan hygiénique.

Si l'on prend l'exemple d'une usine de 120 personnes traitant 3 tonnes/jour de poissons, utilisant des appareils de décongélation à l'eau à +20°C, l'industriel peut ainsi réaliser 4 décongélation de plaques de 65 mm de sardines par jour, correspondant à 4 séquences de traitement des produits. Les matières premières ainsi utilisées auront, si les conditions de travail sont idéales, un taux de contamination bactérienne assez bas avant de subir le salage, fumage ou la stérilisation.

2. Décongélation des thons

a) Décongélation à l'eau

α) Conditions utilisées

* Matières premières

Les essais ont eu lieu uniquement sur les gros thons (Albacore) de 40 kgs environ, non éviscérés, pêchés au large d'Afrique Occidentale.

* Décongélation

. Elle s'est effectuée par immersion, soit dans l'eau à +15°C (circulation d'eau), soit à +20°C (eau calme).

. Dans les deux cas, la même proportion d'eau par rapport au poisson (4kg eau/1kg poisson) a été respectée.

* Prélèvement de l'eau

Il s'est effectué à l'aide d'un flacon stérile, attaché à une ficelle, que l'on immerge dans la cuve de décongélation.

Pour la décongélation en eau calme, le prélèvement se fait au fond de la cuve.

β) Résultats

Les courbes d'évolution de la contamination bactérienne de l'eau, lors de la décongélation d'un thon en eau calme à +20°C, et par circulation d'eau à +15°C, sont tracées dans la figure 36.

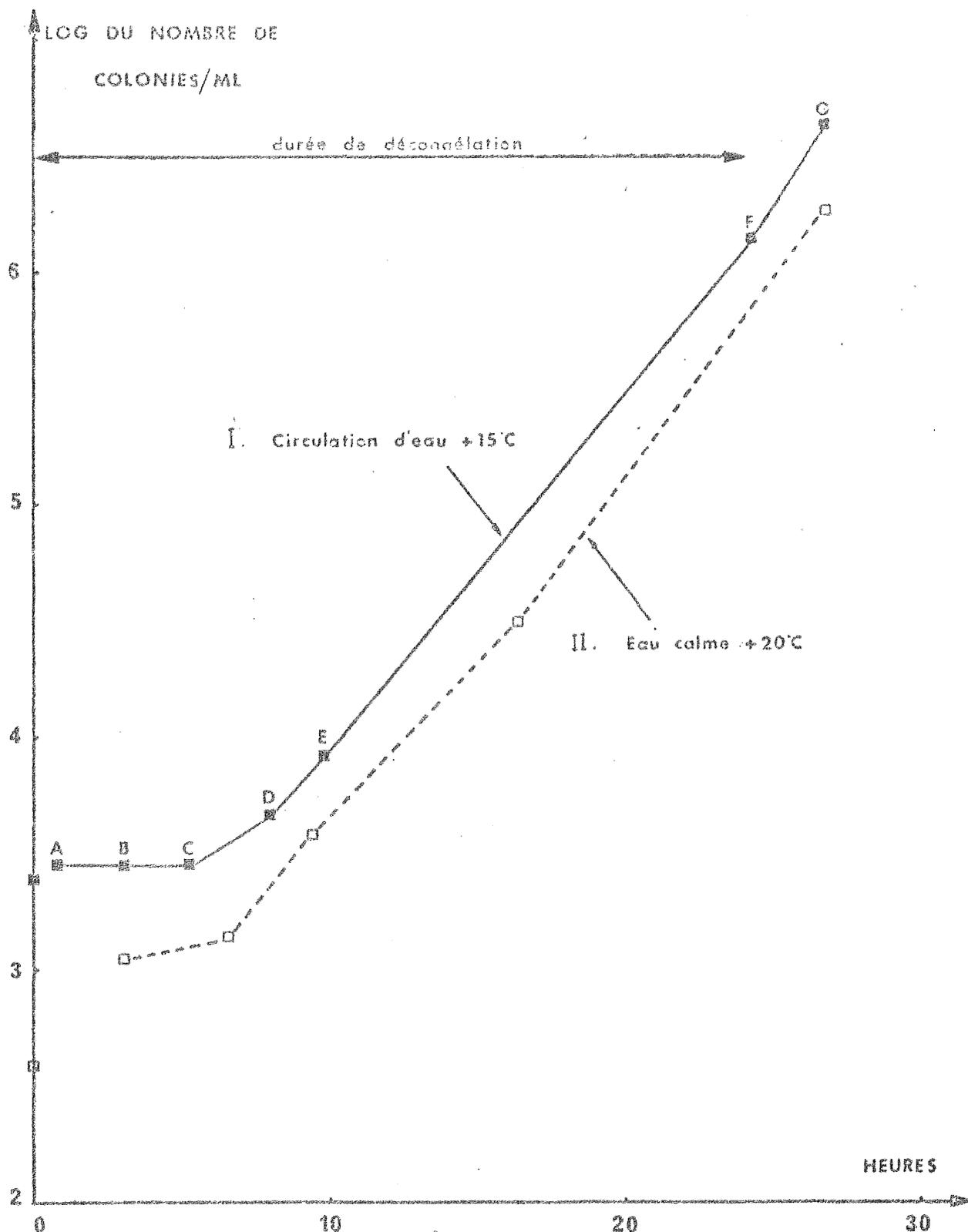


Fig 36 : courbes d'évolution de la concentration bactérienne dans l'eau de décongélation du thon (35 kg)

Dans les deux cas, le temps de décongélation est pratiquement le même, c'est à dire 24 heures.

On distingue schématiquement deux zones sur les courbes. La première correspond à une augmentation très faible ou nulle de la charge microbienne, la seconde fait apparaître une élévation importante et régulière au cours du temps.

Divers phénomènes peuvent contribuer à l'accroissement bactérien au cours du temps dans l'eau :

(a) L'eau étant généralement moins contaminée au départ que le produit à décongeler, entraîne par action mécanique les microorganismes du produit.

(b) Il y a multiplication bactérienne sur le produit, et parallèlement augmentation par "captage" de la charge microbienne de l'eau.

(c) Il y a multiplication sélective des microorganismes introduits dans l'eau : par suite de son enrichissement en substances organiques dissoutes, l'eau devient alors un milieu de culture.

(d) Les phénomènes précédents peuvent être superposés.

Les essais antérieurs réalisés font apparaître que quel que soit le type de décongélation, on observe un temps de latence de quelques heures précédant la croissance bactérienne à la surface du poisson.

En outre, afin de vérifier si, à un instant donné les bactéries dans l'eau sont en phase de croissance, les flacons contenant les prélèvements effectués aux instants A, B, C, D ... de la courbe I (figure 36), sont mis à incuber dans une enceinte régulée à la même température que celle de décongélation.

Lesensemencements d'eau des flacons sont alors effectués toutes les 2 heures (figure 37).

On constate que pour les flacons A et B, les microorganismes introduits dans l'eau n'étaient pas encore au stade de multiplication lors du prélèvement.

Tout se passe comme si (figure 36) seul le phénomène d'entraînement intervenait dans les premiers stades de la décongélation, soit environ 5 à 6 heures. Au-delà, on observe une multiplication active, due en partie, à la croissance des microorganismes introduits dans l'eau.

Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par HAYWARD et coll. (1970) qui déclarent que l'eau est de qualité acceptable encore après 6 heures d'immersion à 13-20°C.

Notons que dans le cas de la décongélation à l'eau stagnante, la concentration bactérienne de l'eau prélevée aux premiers instants de la décongélation est nettement plus élevée que celle de l'eau initiale.

Cette constatation s'explique si l'on tient compte que le prélèvement s'effectue au fond du bac où se déposent les microorganismes par manque d'agitation du milieu.

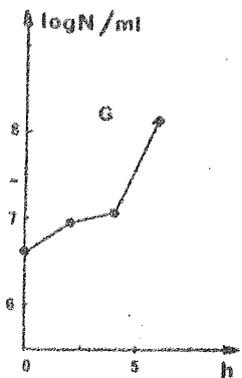
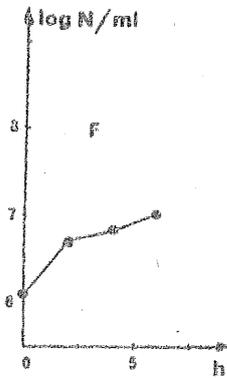
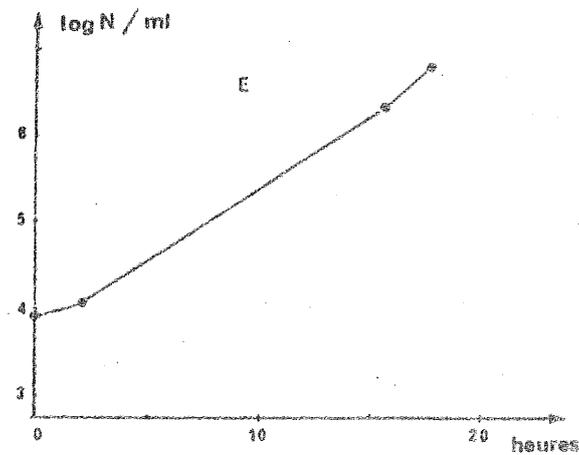
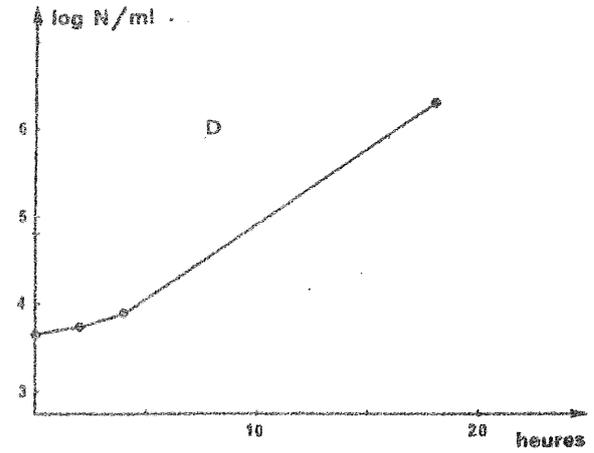
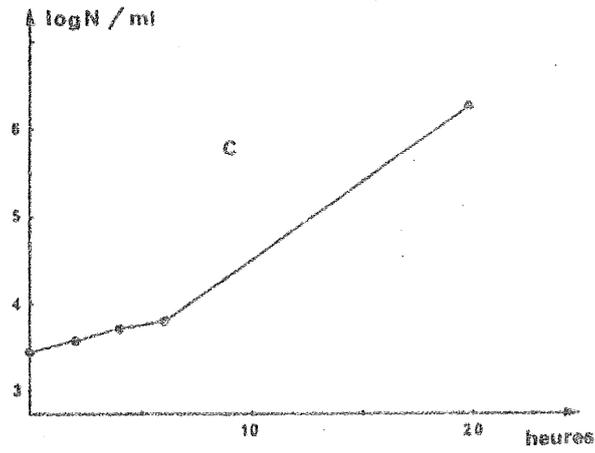
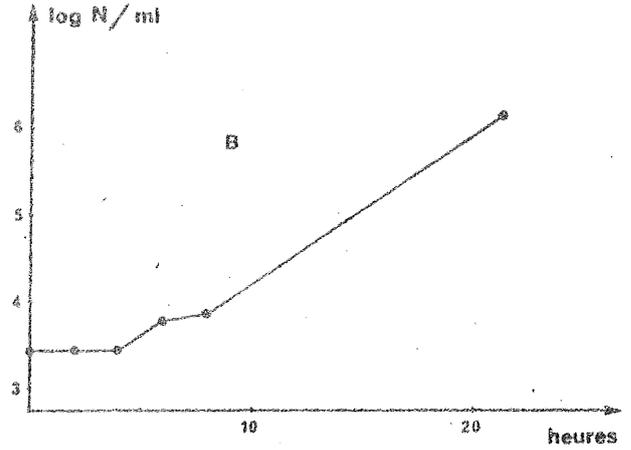
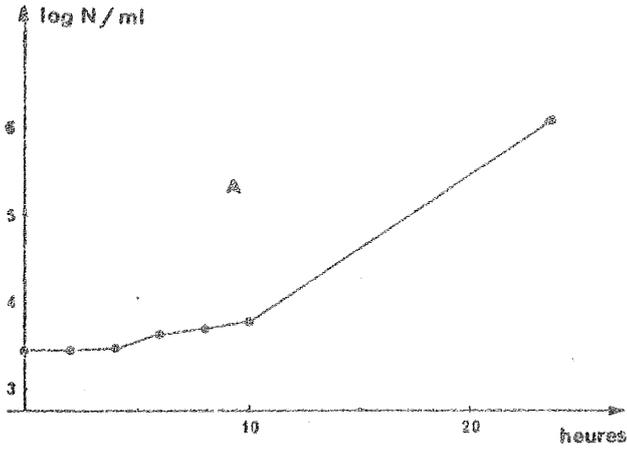


Fig 37 : évolution des bactéries dans l'eau des flacons prélevée aux instants A, B, C, D, E, F et G de la courbe de la figure 36 précédente (cas de la circulation d'eau).

La conséquence pour le produit dans ce type de décongélation de longue durée est démontrée dans les résultats suivants (après transformation en log décimal, puis arrondissement des valeurs à 0,25 près).

- Thons de 40 kgs

	Etat congelé	Etat décongelé (eau à +15°C)
	5,00	6,5
	4,75	6,75
	5,00	7,0
	5,00	7,25
	4,75	7,25
	4,25	7,25
	5,00	
	4,75	
	4,75	
Moyenne	4,805	7,0
Variance estimée	0,059	0,1
Nombre de mesures	9	6

La différence entre l'état décongelé et l'état congelé est très significative.

Tests	Valeurs obtenues	Valeurs-seuils	Conclusions
MANN et WHITNEY Comparaison de moyennes	$U_A = 54$ $U_B = 0$ $m_u = 27$	$\alpha=0,05 \rightarrow U_S=10$ $\alpha=0,01 \rightarrow U_S=5$	$U_B < U_S < m_u$ les 2 séries sont différentes au risque de 1%
Test de F	$F' = 1,69$	$\alpha=0,05 \rightarrow F_S=3,69$	$F' < F_S$ les 2 variances sont identiques
STUDENT	$t' = 15,24$	$\alpha=0,05 \rightarrow t_S=2,16$ $\alpha=0,01 \rightarrow t_S=3,012$ $\alpha=0,001 \rightarrow t_S=4,22$	$t' < t_S$ les 2 moyennes sont différentes au risque de 1%

4) Discussion

Ainsi, lorsque l'immersion est suffisamment longue (au-delà de 6 heures), les microorganismes introduits dans l'eau se multiplient; il en résulte que les produits sont fortement contaminés à l'issue du traitement.

b) Décongélation à l'air pulsé humidifié

α) Conditions utilisées

* Matières premières

Les essais ont eu lieu sur 2 lots différents.

. Lot B

- Espèce : Albacore
- Poids : 3,700 kgs
- Etat : éviscéré
- Origine : Açores
- Entreposage : 2 mois à -20°C

. Lot D

- Espèce : Albacore
- Poids : 40 kgs
- Etat : entier
- Origine : Afrique Occidentale
- Entreposage : inconnue

* Décongélation

- Température : 20°C
- Humidité relative : 100%

(B) Résultats

Les durées nécessaires à la décongélation de thons (albacore) de différentes tailles sont visibles dans la figure 33.

On constate que les résultats sont presque égaux à ceux de l'eau à +15°C, soit environ :

- 5 heures pour un thon de 3,700 kgs
- 1 jour pour un thon de 40 kgs

Les conséquences sur la qualité bactériologique sont les suivantes :

- Thons de 3,700 kgs (lot B)

Thons	"A"	Côté face	"B"	Côté pile	d = "B" - "A"	
		Etat congelé		Etat décongelé	+	-
1		6,0		6,5	0,5	
2		6,0		6,5	0,5	
3		5,25		-		
4		5,25		4,75		0,5
5		4,75		4,75	0	
6		5,5		5,25		0,25
7		7,0		6,75		0,25
8		6,5		6,75	0,25	

Aucune différence significative n'a pu être observée par rapport à l'état congelé, dans les conditions de l'expérience.

Tests	Valeurs obtenues	Valeurs-seuils	Conclusions
WILCOXON	$T_+ = 12$ $T_- = 9$	$p=0,05 \rightarrow t=0$	$T_+ > t$ la décongélation n'entraîne pas de modification
paramétrique (séries appariées)	$t' = 0,24$	$\alpha = 0,05 \rightarrow t_{\alpha} = 2,47$	$t' < t_{\alpha}$ séries issues de la même population

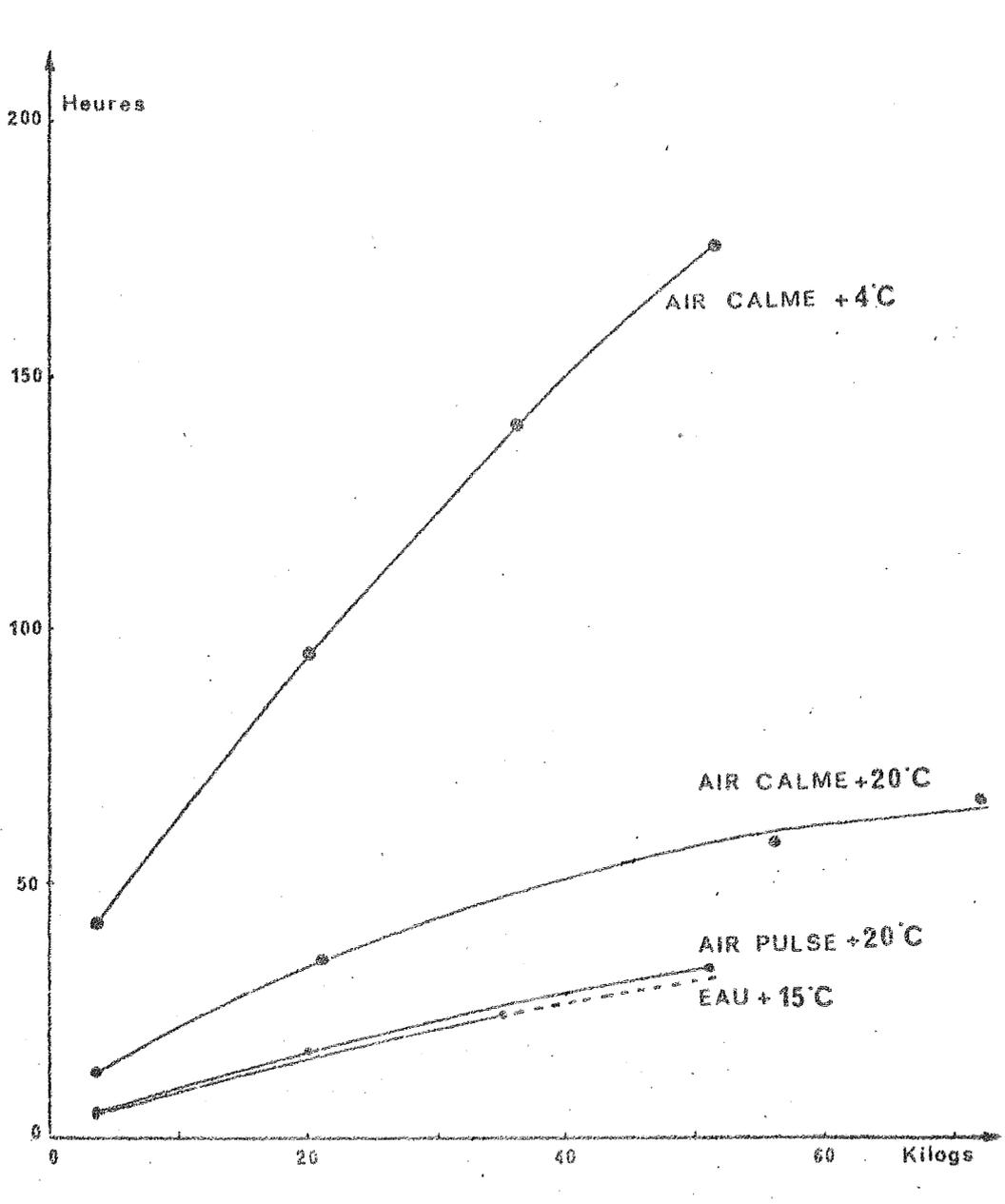


Fig 38 : comparaison des courbes de durées de décongélation des thons (albacore) en fonction de leur poids

- Thons de 40 kgs

	Etat congelé	Etat décongelé (Air pulsé +20°C)
	5,00	7,25
	4,75	6,0
	5,00	6,0
	5,00	5,75
	4,75	-
	4,25	-
	5,00	
	4,75	
	4,75	
Moyenne	4,805	6,25
Variance estimée	0,059	0,458
Nombre de mesures	9	4

La différence est très significative entre l'état décongelé et l'état congelé.

Tests	Valeurs obtenues	Valeurs-seuils	Conclusions
MANN et WHITNEY	$U_A = 36$ $U_B = 0$ $m_u = 18$	$\alpha = 0,05 \rightarrow U_S = 4$ $\alpha = 0,01 \rightarrow U_S = 1$	$U_3 < U_S < m_u$ les 2 séries sont différentes au risque de 1%
Comparaison de moyennes			
Test de F	$F' = 7,753$	$\alpha = 0,05 \rightarrow F_S = 4,07$	$F' > F_S$ les 2 variances sont différentes
DARMOIS	$t = 4,15$	$\alpha = 0,05 \rightarrow R = 3,64$	$t > R$ la différence est significative entre les 2 moyennes

8) Discussion

La décongélation en air pulsé, dans les conditions utilisées (20°C avec 100% H.R.) entraîne une prolifération bactérienne indésirable dès que la durée atteint environ 24 heures. De ce fait, cette méthode n'apporte pas de solution sur le plan hygiénique à la décongélation de gros thons.

3. Conclusions

- Cas des plaques de sardine

Les courbes d'évolution bactérienne montrent que le temps de latence demeure relativement important quelle que soit la vitesse de décongélation.

L'avantage des méthodes "rapides" (circulation d'eau, vapeur sousvide, air pulsé à +20°C) ou "ultra rapides" (micro-ondes) ressort nettement des résultats exprimés : temps de latence bien supérieur à la durée totale de décongélation.

TABLEAU XV

Résultats des temps de latence réels et des durées de décongélation obtenus dans le cas des plaques de sardines pour les différentes méthodes testées

N°	Temps de latence réel (h)	Durée de décongélation (h)	
		Plaques de 65 mm d'épaisseur	Plaques de 100 mm d'épaisseur
		Petites sardines (~30/kg)	Grosses sardines (~10/kg)
Air calme + 4°C	37 36 49 - 29 48	38.30	45.45
Air calme +20°C	16 21 17 19 18 17 17.30	15	21
Eau +15°C		3.26	
** Eau +20°C	8.30 7.30	2	
APV +15°C		3.50	
** APV +20°C	10	2.15	
** Air pulsé +20°C	11 10*	2.15	3.15
** Micro-ondes	15	7 mn	

* 6 mois d'entreposage

** après décongélation les poissons étaient conservés à +20°C dans l'air

- Cas du thon

Si la multiplication bactérienne à la surface du thon était nulle ou limitée dans les cas des décongélation lentes, et ce malgré leurs durées appréciables, on a, en revanche, observé un accroissement important de la population microbienne en 24 heures dans le cas de l'air pulsé humidifié et de l'eau.

Ainsi, la prolifération peut être active lorsque l'augmentation de la température est associée à une humidification importante.

- Au niveau de la méthode, toutes les décongélation rapides testées permettent un traitement satisfaisant du poisson sur le plan hygiénique (si on excepte le cas du thon entier de grosse taille).

La décongélation à l'eau est acceptable, à condition qu'elle ne soit pas trop longue et que la proportion d'eau utilisée par rapport au poisson (environ 4/1) soit respectée, d'où l'intérêt de renouveler cette eau entre chaque séquence.

D) DISCUSSION GENERALE : COMPARAISON ENTRE LES DIFFERENTES METHODES TESTEES

Dans la pratique, les conséquences bactériologiques, dues à l'utilisation de différentes méthodes, sont dépendantes de certains impératifs industriels tels que : capacité de production, planification du travail en usine, traitement après décongélation ...

Aussi, nous avons imaginé la planification journalière d'une conserverie française, de taille moyenne, utilisant une décongélation discontinue (en armoires ou chambres réglées), et dont les capacités de stérilisation seraient bien adaptées au rythme de la production concernée.

Les tableaux XVI et XVII envisagent les conséquences respectives dans l'hypothèse de l'utilisation de diverses méthodes pour le même type d'usine.

Ainsi, dans le cas d'une décongélation rapide (tableau XVI) la quantité à traiter journalièrement peut être scindée en plusieurs lots travaillés par séquence successive, ce qui élimine tous risques d'altération par exposition trop longue à température ambiante.

Au contraire, lorsque la décongélation est longue (tableau XVII) le lot destiné à la production journalière doit être décongelé en une seule fois. Le temps de latence correspondant approximativement à la durée nécessaire à la décongélation, la plupart des poissons subissent alors un début d'altération (plaques de 65 mm) ou sont en partie altérés (plaques de 100 mm).

TABLEAU XVI

T (nbre./kg)	P (mm)	Durée (h)	N	Quantité traitée par opération (t)			Horaires de décongélation	Horaires de travail	(*) Durée maximale disponible avant stérilisation (h)	Temps de latence moyen (h)	(**) Marge de sécurité	
				C.A.J. 5t/j	C.A.J. 10t/j	C.A.J. 15t/j					-	+
20 à 30	65	2	5	1	2	3	6 h 8 h 10 h 12 h 14 h	8 h à 12 h 14 h à 18 h	2	10	6h à 8h	
9 à 11	65	3	3	1,66	3,33	5	6 h 9 h 12 h	9 h à 12 h 13 h à 18 h	3	10	4h à 7h	
9 à 11	100	8	2	2,5	5	7,5	22 h (v) 6 h 14 h	8 h à 12 h 14 h à 18 h	4	10	2h 2h	

- T : Taille des sardines
P : Epaisseur des plaques de sardines
N : Nombre d'opérations par jour
C.A.J. : Capacité d'absorption journalière
(v) : Veille
(*) : Durée disponible avant stérilisation : temps imparti selon les séquences de décongélation compte-tenu de la durée de travail
(**) : Marge de sécurité = temps de latence moyen - (durée de décongélation + durée avant stérilisation)

E) CONCLUSIONS GENERALES

Nous avons pu mettre en évidence dans l'évolution de la flore l'existence d'un temps de latence, relativement long avant la multiplication bactérienne lors de la décongélation du poisson; ce comportement est fonction de la température de décongélation : 15 heures et 33 heures environ pour les températures respectives de +20°C et +4°C en air calme, soit l'équivalent des durées nécessaires à leur décongélation. En revanche, il est peut sensible à la vitesse de décongélation.

Aussi, les méthodes relativement rapides utilisant convenablement l'eau, l'air pulsé ou la vapeur sous vide ou très rapides (micro-ondes) donnent des résultats bactériologiques satisfaisants à condition que la décongélation soit faite convenablement.

Dans le cas de l'immersion dans l'eau, par exemple, une proportion d'eau potable par rapport au poisson (environ 4/1) et une durée limitée de l'opération (6 à 7 heures maximum) doivent être respectées.

Par contre, les décongélation en air calme à +20°C et à +4°C peuvent entraîner un accroissement de la population bactérienne lors du traitement du poisson avant stabilisation ou stérilisation.

En raison de la durée excessive nécessaire (cas des décongélation lentes) et de la prolifération importante constatée au bout de 24 heures (air pulsé humidifié à +20°C, eau à +15°C), la décongélation des thons entiers de taille volumineuse n'est pas recommandée; un prédécoupage du poisson à l'état congelé est donc nécessaire.

Le choix du mode de décongélation du poisson destiné à la transformation industrielle dépend de beaucoup de critères, notamment économiques, souvent propres à une usine en particulier.

Toutefois, si l'on opte pour la qualité hygiénique comme critère principal de choix, l'emploi d'un procédé rapide peut être recommandé (même si une température assez élevée doit être utilisée) car il contribue au maintien de la bonne qualité bactériologique initiale du produit avant traitement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADAMS (F.), PARBER (L.), LERKE (P.). 1964 - Bacteriology of spoilage of fish muscle II) Incidence of spoilers during spoilage - Appl. Microbiol., 12, 277 - 279.
- ALMY (I.H.), FIELD (E.). 1922 - The preservation of fish frozen in chilled brine. II) The keeping quality of the fish - J. Ind. Eng. Chem., 14, 203 - 206.
- ANAND (C.) et RUDRA SETPY (T.). 1977 - Contrôle chimique de la contamination du poisson par les bactéries psychrophiles. 1. Isolement et identification des bactéries psychrophiles des poissons marins - Fish. Techn., 14, 93 - 102.
- ANONYME. 1962 - Thawing of sea-frozen fish - Torry Research Station, Annual Report 1961, 16 - 17 (1962).
- ANTONIOS (F.), VOLFF (P.). 1970 - Influence du mode de décongélation sur les résultats des examens bactériologiques des produits surgelés - Revue Générale du Froid, 4, 423 - 431.
- ARPAI (J.). 1962 - Non lethal freezing injury to metabolism and mobility of Pseudomonas fluorescens and E. coli - Appl. Microbiol., 10, 297 - 301.
- ARPAI (J.). 1964 - Ueber die biologische wirkung der Kältinsbesondere auf mikroorganismen - Kälte, 17, 485 - 494.
- ASCHEHOUG (V.), VESTERHUS (R.). 1943 - Investigation of the bacterial flora of fresh herring - Zentr. Bakteriol. Parasitenk. ABT.II, 106, 5 - 27.
- AUBEFT (M.). 1965 - Le comportement des bactéries terrigènes en mer. Relations avec le phytoplancton - Les cahiers du C.E.R.B.O.M., Tome XIX et Tome XX.
- AUBEFT (M.), AUBEFT (J.) et GAMBAROTTA (J.P.). 1968 - Inventaire national de la pollution bactérienne des eaux littorales. Tome I Chapitre II. Considérations théoriques sur l'évolution des rejets d'eaux résiduaires en mer et des agents bactériens polluants - 25 -26. Supplément de la Revue Internationale d'Océanographie Médicale. C.E.R.B.O.M. 1968.
- AURELL (T.), DAGBJARTSSON (B.) et SALOMON SDOTTIR (E.). 1976 - A comparative study of freezing qualities of seafoods obtained by using different freezing methods - J. Food Sci., 41, 1165 - 1167.
- BACON (E.K.). 1971 - Quality Control of Ingredients used in Tuna Canning - in Fish Inspection and Quality Control Ed. by F. KREUZER. Fishing News (Books) LTD, 92 - 96.
- BEFTEL (F.). 1912 - Sur la distribution quantitative des bactéries planctoniques des côtes de Monaco - Bull. Inst. Océanogr. Monaco, 224, 1 - 12.

- BILLON (J.). 1976 - Intérêt du froid dans la conservation du poisson et des crustacés. Aspects microbiologiques - Bull. Acad. vét., Fr., 49, n° 3, 333 - 339.
- BITO (M.). 1970 - Studies on the retention of meat color of frozen Tuna. VIII Discoloration of frozen meat during defrosting in water or air - Bull. jap. soc. Sci. Fish., 36, 402, 406.
- BITO (M.). 1975 - Effect of thawing and packaging material on discoloration of frozen Skipjack meat - Bull. jap. soc. Sci. Fish., 41, 1031 - 1037.
- BITO (M.). 1978 - Effect of pH on water-holding properties of frozen Skipjack meat - Nippon Suisan Gakkaishi, 44, 163 - 169.
- BOSE (A.N.). 1969 - Freezing of Tropical fish - in Freezing and Irradiation of fish Ed. by R. KREUZER. Fishing News (Books) Ltd, 179 - 188.
- BOURY (M.). 1958 - La sardine congelée - Revue Travaux Institut des Pêches Maritimes, 22, (3), 1958, 255 - 298.
- BRISOU (J.). 1955 - Microbiologie du milieu marin - Ed. Flammarion, Paris.
- BURGESS (G.H.O.), HEWITT (M.R.), JASON (A.C.). 1975 - A review of current methods of thawing fish and future prospects - Rapport présenté à "Institute of Refrigeration at the Faculty of Environmental Science and Technology" - London, 6 mars 1975.
- BUTTIAUX (R.). 1968 - Le déversement des eaux résiduaires - Bull. I.N.S.E.R.M., 23, 623 - 638.
- BUTTIAUX (R.). 1973 - Microbiologie et Décongélation - Rev. générale du Froid, 6, 591 - 592.
- CAMPELLO (F.). 1970 - Bactériologie des produits de la mer congelés - Rev. générale du Froid - 11, 1445 - 1459.
- CANN (D.C.). 1974 - Bacteriological Aspects of tropical shrimp - in Fishery Products, Ed. by R. KREUZER. Fishing News (Books) Ltd, 338 - 345.
- CASTELL (C.). 1947 - Growth of Clostridium in seaweeds and marine fish - J. Fish Res. Bd. Can., 7, 162 - 168.
- CASTELL (C.), ANDERSON (G.). 1948 - Bacteria associated with the spoilage of cod fillets - J. Fish Res. Bd. Can., 7, 370 - 377.
- CASTELL (C.) et GREENOUGH (M.F.). 1957 - The Action of Pseudomonas on fish muscle : 1. Organisms responsible for odours producing during incipient spoilage of chilled fish muscle - J. Fish Res. Bd. Can., 14, 617 - 625.
- CASTELL (C.), GREENOUGH (M.F.) et JENKIN (N.L.). 1957 - The action of Pseudomonas on fish muscle : 2. Musty and Potato-like odours - ibid., 14, 775 - 782.

- CASTELL (C.), GREENOUGH (M.F.) et DALE (J.). 1959 - The action of Pseudomonas on fish muscle : 3. Identification of organisms producing Fruity and Oniony odours - ibid., 16, 13 - 19.
- CASTELL (C.) et GREENOUGH (M.F.). 1959 - The action of Pseudomonas on fish muscle : 4. Relation between substrate composition and the development of odours by Pseudomonas fragi - J. Fish. Res. Bd. Can., 16, 21 - 31.
- CATHCART (V.H.). 1946 - Frozen foods defrosted by electric heat - Food Ind., 18, 1524 - 1525.
- CHAI (T.), CHEN (C.), ROSEN (A.) et LEVIN (B.E.). 1968 - Detection and incidence of specific species of spoilage bacteria on fish. II. Relative incidence of Pseudomonas putrefaciens and fluorescent pseudomonads on haddock fillets - Appl. Microbiol., 16, 1738 - 1744.
- CHEFTEL (J.C.), CHEFTEL (H.) et BESACON (P.). 1977 - Traitements de préservation dans "Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments" - Vol. 2, Entreprise Moderne d'édition, Technique et Documentation Paris, 157 - 307.
- CHEN (H.C.), WU (C.Y.), LIN (H.H.) et CHUNG (C.Y.). 1976 - Effect of Microwave and Open flame heating on the microbial counts and weight loss of Eel - Bull. jap. soc. of Sci. Fish., 42, 405 - 410.
- CHISTYAKOV (F.), NOSKOVA (G.). 1955 - The adaptation of micro-organisms to low temperatures - Proc. Intern. Congr. Refrig., 9ème Congrès, Paris, 1954, 2, 230 - 235.
- CLARK (A.G.). 1977 - Survival of Vibrio parahaemolyticus after chilling in Transport Media : An explanation for Divergent findings - Applied and Environmental Microbiology, 34, 597 - 599.
- CREPEY (J.R.), MAIREY (D.). 1969 - Essai d'application de la méthode de décongélation électronique à la sardine congelée destinée à la conserve - in Freezing and Irradiation of fish, Ed. by F. KREUZER. Fishing News (Books) Ltd, 206 - 212.
- CREPEY (J.R.), MAILLIARD (J.). 1974 - La décongélation du poisson - Science et Pêche, Bull. Inst. Pêches Marit., n° 232, janvier 1974.
- CREPEY (J.R.). 1975 - Modifications de la microstructure constatées lors de la congélation et de la décongélation des produits marins - I.I.F.-I.I.R., Moscou 1975.
- CREPEY (J.R.), BECEL (P.), HADJADJ (A.). 1976 - La congélation du poisson par immersion dans le R-12. Performances thermiques et microstructures des produits congelés et décongelés - I.I.F.-I.I.R., Melbourne 1976.

- CREPEY (J.R.), BECEL (P.). 1978 - Etude expérimentale de certaines méthodes de décongélation appliquées au thon et à la sardine - I.I.F.-I.I.P., Budapest 1978.
- DAVIS (J.G.). 1952 - The effect of cold on micro-organisms in relation to dairying - Proc. Soc. appl. Bact., 14, 215 - 242.
- DIGIPOLAMO (P.), LISTON (J.), MATCHES (J.). 1970 - The effects of freezing on the survival of Salmonella and E. coli in Pacific Oysters - J. of Food Sci., 35, 13 - 16.
- DISNEY (J.G.), COLE (P.C.) et JONES (N.R.). 1974 - Considerations in the use of tropical fish species - in Fishery products, Ed. by P. KREUZER. Fishing News (Books) Ltd, 329 - 337.
- DOBFOWSKY (G.). 1935 - The microflora of sturgeon - Voprosy Pitaniya, 5, 56 - 64.
- DOEBBLER (G.), FINFPET (A.). 1963 - Survival of micro-organisms after ultra-rapid freezing and thawing - J. of Bact., 85, 485.
- DFEW (G.H.). 1912 - Report of investigations on marine bacteria carried on at Andros Island, Bahamas, British West Indies, in May 1912, Year-book Carnegie Inst. Washington, 11, 135 - 144.
- DUCLUZEAU (R.). 1969 - Influence de l'espèce zoologique sur la microflore du tractus gastro-intestinal - Rev. d'Immunol., 33, 345 - 384.
- DUCLUZEAU (R.). 1975 - La bactériologie des eaux minérales et leur signification hygiénique - Comte-rendu des exposés présentés aux Nouvelles Rencontres médicales et scientifiques de Vittel - 23 septembre 1975.
- DYER (W.), DYER (F.), SNOW (J.). 1947 - The spoilage of gutted cod in crushed ice - J. Fish. Res. Bd. Can., 37, 3.
- DYER (F.). 1947 - Microorganisms from atlantic cod - J. Fish. Res. Bd. Can., 7, 128 - 136.
- EDMUNDS (W.J.) et EITENMILLER (R.R.). 1975 - Effect of storage time and temperature on histamine content and histidine decarboxylase activity of aquatic species - J. Food Sci., 40, 516 - 519.
- EMBLIK (E.). 1977 - La décongélation des produits alimentaires - Schlachten und Vermarkten, 77, 324 - 327.
- ENZINGER (F.H.), COOPER (R.C.). 1975 - Role of bacteria and protozoa in removal of E. coli from estuarine waters - Appl. Environ. Microbiol., 31, 758 - 763.
- FARRELL (J.), ROSE (A.). 1955 - Low temperature microbiology - Adv. in Appl. Microbiol., 7, 335 - 375.

- F.I.C.U.R. 1973 - Rapport statistique 1973, numéro spécial de Surgélation, 15-18.
- FOYN (B.) et GRAN (H.H.). 1928 - Ueber oxydation von organischen stoffen im Meerwasser durch Bakterien Avhandl. Norske Videnskaps. A kad i Oslo, i Matem-Naturv-Klase, 3, 1 - 16. Cité par ZOBELL, 1946.
- FRAZIER (W.). 1958 - Food Microbiology - Mc Graw Hill book Company Inc., New-York, Toronto, London, 1 vol.
- FUJII (T.), ISHIDA (Y.) et KADOTA (H.). 1977 - Changes in microflora during storage at low temperature of salted fish - Bull. jap. Soc. of Sci. Fish., 43, (10) 1241 - 1247.
- GARCIA-TELLO (P.) et ZALESKI (S.). 1970 - Transformations qualitatives et quantitatives de la microflore de l'intestin de cabillaud du sud de la Baltique au cours de l'entreposage à 1-2°C - J. Food Sci., 35, n° 4, 482 - 485.
- GEORGALA (D.L.). 1957 - Quantitative and qualitative aspects of the skin flora of North Sea Cod and the effect thereon of handling on ship and on shore - Ph. D. Thesis, Aberdeen University, Aberdeen, Scotland.
- GIBBONS (N.E.), FRED (G.). 1930 - The effect of autolysis in sterile tissues on subsequent bacterial decomposition - J. of Bact., 19, 73 - 88.
- GILB (H.W.). 1945 - Electronic defrosting of frozen foods - Food in Canada, 5, 9 - 10.
- GILLESPIE (N.C.), MACRAE (I.C.). 1975 - The bacterial flora of some Queensland Fish and its ability to cause spoilage - J. appl. Bact., 39, 91-100.
- GILMOUR (A.), Mac CALLUM (M.F.) et ALLAN (M.C.). 1976 - A study of the bacterial types occurring on the skin and in the intestines of farmed Plaice (Pleuronectes platessa, L.) - Aquaculture, 7, 161 - 172.
- GRESSEL und GRAFE. 1929 - Zur Frage der Haltbarkeit von Hackfleisch aus Frischfleisch und Gefrierfleisch - Berl. tierärztliche W schr., 45, 430-432.
- GUELIN (A.). 1952 - Bactériophages et entérobactéries chez les poissons de mer et le problème des eaux polluées - Ann. Inst. Pasteur, 83, 46 - 56.
- GUELIN (A.). 1954 - La contamination des poissons et le problème des eaux polluées - Ann. Inst. Pasteur, 86, 303-308.
- GUELIN (A.). 1952 - Non réceptivité des alevins de truite à l'infection par les entérobactéries et les entérophages - Ann. Inst. Pasteur, 103, 122 - 127.

- GUILLOT (G.), LEBEPT (F.). 1966 - Qualité bactériologique de divers échantillons de légumes surgelés - I.I.F. Commission Bologne 1966, 4 et 5.
- GUILLOT (G.). 1969 - La microbiologie des fruits, légumes et plats préparés surgelés - Rev. générale du Froid, 9, 1203 - 1236.
- HAINES (R.). 1938 - The effect of freezing on bacteria - Proc. Roy. Soc., Ser. B., 124, 451 - 463.
- HAMID (A.), SAKATA (T.) et KAKIMOTO (D.). 1978 - Microflora in the Alimentary Tract of Gray Mullet. II. A comparison of the Mullet Intestinal Microflora in Fresh and Sea Water - Bull. jap. Soc. Sci. Fish., 44, (1), 53 - 57.
- HANSEN (P.). 1969 - A comparison of the quality of frozen plaice fillets prepared from fresh or frozen Raw Materials - in Freezing and Irradiation of fish, Ed. R. KRUSZEP. Fishing News (Books) Ltd, 159 - 160.
- HARTSELL (S.E.). 1951 - The longevity and behaviour of pathogenic bacteria in frozen foods; the influence of plating media - Am. J. Public Health, 41, 1072 - 1077.
- HASEGAWA (K.). 1975 - Control of browning of canned skipjack (Katsuwonus pelamis) and albacore (orange colour). Effect of the treatment of raw materials and of storage conditions on the orange colour of canned meat - Bull. jap. Soc. Sci. Fish., 42, 187 - 195.
- HAYWARD (M.J.), Mac CALLUM (W.A.). 1969 - Bacteria counts on Cod and Flounder Fillets produced commercially from fish frozen at sea and thawed in water - J. Fish Res. Bd. Can., 26, 3217 - 3231.
- HAYWARD (M.J.), Mac CALLUM (W.A.), SHAW (D.H.). 1970 - Bacteriological Evaluation of Flounder (Hippoglossoides platessoides) frozen at sea and thawed by water immersion - J. Fish. Res. Bd. Can., 27, 1983 - 1986.
- HENDRIE (M.S.), HODGKISS (W.) et SHEWAN (J.M.). 1964 - Considerations on organisms of the Achromobacter alcaligenes group - Ann. Inst. Pasteur, Lille, 15, 43 - 59.
- HEPBERT (F.A.), HENDRIE (M.S.), GIBSON (D.M.) et SHEWAN (J.M.). 1971 - Bacteria active in the spoilage of certain seafoods - J. Appl. Bact., 34, 41 - 50.
- HEPBERT (F.A.). 1975 - Microbial ecology of fish spoilage - Process Biochem., 10, n° 10, 9 - 11.
- HEPBERT (F.A.), SHEWAN (J.M.). 1976 - Roles played by bacterial and autolytic enzymes in the production of volatil sulphides in spoiling North sea Cod (Gadus morhua) - J. Sci. Food Agric., 27, n° 1, 89-94.

- HESS (E.). 1934 a) The effects of freezing on marine bacteria I) Quantitative studies - J. Biol. Ed. Can., 1, 95 - 108.
b) Cultural characteristics of marine bacteria in relation to low temperature and freezing - Contrib. Can. Biol. and Fisheries, 8, 461 - 474.
- HORIE (S.), OKUZUMI (M.), KIMURA (M.), AKAHORI (M.) et KAWAMAE (M.). 1972 - J. Food Hyg. Soc., 13, 410 - 417 ; cité par FUJII et coll. (1977).
- HOROWITZ-VLASOVA (L.M.), GRINBERG (L.D.). 1933 - On cryophilic microbes - Advanced Refrig. Tech. (Fussian), n° 1, 19 (1934), résumé Bull. Int. Inst. Refrig., 15, 245 -249.
- HORSLEY (F.W.). 1973 - The bacterial flora of the Atlantic Salmon (Salmo salar L.) in relation to its environment - J. appl. Bact., 36 , 377 - 385.
- HOUWING (H.). 1972 - Décongélation du poisson et des produits de la pêche - De Visserijwereld, 31 ,(20), 1972.
- HUNTER (A.C.). 1920 - Bacterial decomposition of salmon - J. Bact., 5, 353 - 361.
- INGRAM (M.). 1951 - The effect of cold on micro-organisms in relation to food - Proc. Soc. Appl. Bact., 14 , 243 - 250.
- INUKAI (K.). 1976 - Rate of spoilage of frozen Mackerel after thawing - Mie Igaku, 20 , 19 - 24.
- JOHANNSEN (A.). 1965 - Clostridium botulinum type E in foods and the environment generally - J. Appl. Bact., 28 , 90 - 94.
- JOHNSON (W.G.), SALINGER (A.C.), KING (W.C.). 1973 - Survival of Vibrio parahaemolyticus in Oyster Shellstock at two different storage temperatures - Appl. Microbiol., 26 , 122 - 123.
- JOHNSON (H.C.) et LISTON (J.). 1973 - Sensitivity of Vibrio parahaemolyticus to cold in Oysters, fish fillets and Crabmeat - J. Food Sci., 38, 437 - 441.
- KALLERT (E.). 1928 - Vergleichende Untersuchungen über die Haltbarkeit von Hackfleisch aus Frischfleisch und Gefrierfleisch - Berl. tierärztliche Wschr., 44 , 547 -551. Cité par KITCHELL et INGRAM (1956).
- KARSTI (O.). 1965 - Décongélation à l'air humide du poisson congelé - O.C.D.E., Manutention et préservation du poisson, 135.
- KATOH (H.). 1969 - Effects of low temperature for the growth and survival of micro-organisms - Symposium : Microbiological problems relating to cold storage of fish and shellfish - Bull. jap. Soc. Sci. Fish., 35,

- KIMATA (M.) et KAWAI (A.), 1951 a et b - The freshness of fish and the amount of histamine presented in the meat - Bull. Res. Inst. Food Sci., Kyoto Univ., 5, 21 - 23 et 6, 21 - 23.
- KIMATA (M.) et KAWAI (A.), 1952 - a et b. The freshness of fish and the amount of histamine presented in the meat - Ibid., 10, 83 - 88 et 89 - 93.
- KIBER (J.S.), BECKWITH (T.D.), 1942 - Effect of fast freezing upon bacterial flora of mackerel - Food Research, 7, 255 - 259.
- KITCHELL (A.G.), HUSAM (K.), 1956 - A comparison on bacterial growth on fresh meat and on frozen meat after thawing - Ann. Inst. Pasteur, Lille, VIII, 121 - 131.
- KOŁAKOWSKI (L.), KOŁAKOWSKA (A.), SAKUS (S.), 1972 - Stabilizing properties of natural spices on the fat of frozen minced herring flesh - I.I.F.-I.I.P., Commissions C2 et D1, Varsovie 1972, 65 - 72.
- KOŁAKOWSKI (L.), FIK (M.) et KARMINSKA (S.), 1972 - Investigations into changes in the protein nutritive value of frozen fish sausages produced from fresh and frozen minced flesh - I.I.F.-I.I.P., Commissions C2 et D1, Varsovie 1972, 59 - 63.
- KOZIMA (T.T.), MURAJI (T.), 1977 - Thawing time and quality of some frozen foodstuffs after vacuum-, water and air-thawing - Refrigeration, 52, 577 - 585.
- KRISS (A.E.) et FOUKHA (E.A.), 1952 - Bull. Acad. Sci., U.R.S.S., 1952, 6, 67, cité par BRISOU (1955).
- LARXIN (E.P.), LITSKY (W.), FULLER (J.E.), 1955 - Fecal streptococci in frozen foods II) Effect of freezing storage on E. coli and some fecal streptococci inoculated into green beans - Appl. Microbiol., 3, 102 - 104.
- LEARSON (V.J.), 1974 - New methods of Shellfish processing in the United States - in Fishery Products, Ed. by R. KREUZER, Fishing News (Books) Ltd, 160 - 167.
- LEE (J.S.) et WEIFER (D.K.), 1975 - Microbiological characteristics of Dungeness Crab (Cancer magister) - Appl. Microbiol., 50, n° 1, 72 - 78.
- LEXSHMY (A.), CHOUDHURI (D.R.), PILLAI (V.K.), 1969 - Rate of survival of organisms of sanitary significance during freezing and subsequent storage - in Freezing and Irradiation of Fish, Ed. by R. KREUZER, Fishing News (Books) Ltd., 343 - 348.
- LEPÉE (P.), ADAMS (F.) et FARBER (L.), 1963 - Bacteriology of spoilage of fish muscle. I) Sterile press juice as a suitable experimental medium - Appl. Microbiol., 11, 458 - 462.

- LENKE (P.), ADAMS (L.), FARMER (L.). 1949 - Bacteriology of spoilage of fish muscle, III) Characterisation of the spoilers - Appl. Microbiol., 13, 525 - 530.
- L'HERVETIER (P.H.). 1949 - Les méthodes statistiques dans l'expérimentation biologique - Service des publications du C.N.R.S., Paris 5e.
- LISTON (J.). 1955 - A quantitative and qualitative study of the bacterial flora of skate and lemon sole trawled in the North Sea - Ph. D. Thesis Aberdeen University, Aberdeen, Scotland.
- LISTON (J.). 1956 - Quantitative variations in the bacterial flora of flatfish - J. Gen. Microbiol., 15, 205 - 214.
- LISTON (J.). 1957 - The occurrence and distribution of bacterial types on flatfish - J. Gen. Microbiol., 16, 205 - 216.
- LISTON (J.), HATCHES (J.E.) et BAROSS (J.). 1971 - Survival and growth of pathogenic bacteria in Seafoods - in Fish Inspection and Quality Control, Ed. by N. KREUZER, Fishing News (Books) Ltd., 246 - 249.
- LLOYD (E.). 1931 - Muds of the Clyde Sea Area, II) Bacterial content - J. Mar. Biol. Assoc., 17, 751 - 755.
- LLOYD (E.). 1930 - Bacteria of the Clyde Sea Area : a quantitative investigation - J. Mar. Biol. Assoc., 16, 879-907.
- ŁOJKIEWICZ (J.), ZALESKI (S.) et JAKUBOWSKA (L.). 1972 - Comparative investigations on the keeping time of fresh and thawed herring - I.I.F.-I.I.R., Commissions C2 et D1, Varsovie 1972, 73 - 75.
- LUCKE (F.), SCHWARTZ (W.). 1937 - Mikrobiologische untersuchungen an see fischen - Arch. Mikrobiol., 8, 207 - 230, cité apr REAY et SHEWAN, 1949.
- LUIJDEN (A.F.). 1958 - Objective spoilage tests for fish stored under conditions other than normal chilling in ice - J. Sci. Food Agr., 9, 410 - 414.
- LUND (A.J.), HALVORSON (H.O.). 1951 - The effect of low temperatures on enzymes and micro-organisms - Proc. Conf. on Research Council on Research Am. Meat Inst., Univ. Chicago 3rd Conf. 1951, 59, cité par INGRAM (1951).
- Mac CALLUM (W.A.), CHALKER (D.A.), DYER (W.J.) et IDLER (D.R.). 1967 - Effects of water and dielectric thawing processes on shelf life of double-frozen cod and redfish - J. Fish. Res. Bd. Can., 24, 127 - 144.
- Mac CALLUM (W.A.), MERRITT (J.H.). 1969 - The handling of sea-frozen whole fish and its effect on bacterial spoilage and on sanitary quality - Bull. Inst. Intern. du Froid, Annexe 1969-5, Commission VIII, Le Havre, 119 - 123.

- Mac CALLUM (V.A.), TULBE (L.R.). 1959 - Influence of thawing and thawing methods on the immediate and retrowen storage quality of fish - in Freezing and Irradiation of Fish, Ed. by F. KREUZER, Fishing News (Books) Ltd., 213 - 223.
- Mac CALLUM (V.A.). 1971 - Quality aspects of industrial water thawing and fillet processing - in Fish Inspection and Quality Control, Ed. by F. KREUZER, Fishing News (Books) Ltd., 225 - 233.
- Mac DONALD (I.), HEWITT (M.R.), MACKAYITA (A.), SMITH (G.L.). 1972 - Freezing herring at sea in a vertical plate freezer - I.I.F.-I.I.R., Commissions C2 et D1, Varsovie 1972, 149 - 153.
- MARGOLIS (L.). 1935 - The effect of fasting on the bacterial flora of the intestines of fish - J. Fish. Res. Bd. Can., 10, 62 - 63.
- HENRITT (J.H.). 1959 - Evaluation of Techniques and Equipment for thawing frozen fish - in Freezing and Irradiation of Fish, Ed. by F. KREUZER, Fishing News (Books) Ltd., 196 - 200.
- MICHEMER (H.), THOMPSON (P.), DISTRICT (V.). 1950 - Time temperature Tolerance of frozen foods. XXII) Relationship of bacteria population to temperature - Food Tec., 14, 290 - 294.
- MILLER III (A.), SCANLAN (F.A.), LEE (J.S.), LIBBEY (L.M.), MORGAN (M.E.). 1973 a - Volatile compounds produced in sterile fish muscle (Sebastes melanops) by Pseudomonas perolens - Appl. Microbiol., 25, 257 - 261.
- MILLER III (A.), SCANLAN (F.A.), LEE (J.S.), LIBBEY (L.M.). 1973 b - Identification of the volatile compounds produced in sterile fish muscle (Sebastes melanops) by Pseudomonas fragi - Appl. Microbiol., 25, 952 - 955.
- MILLER III (A.), SCANLAN (F.A.), LEE (J.S.), LIBBEY (L.M.). 1973 c - Volatile compounds produced in sterile fish muscle (Sebastes melanops) by Pseudomonas putrefaciens, Pseudomonas fluorescens, and an Achromobacter species - Appl. Microbiol., 26, 18 - 21.
- MITCHELL (F.). 1971 - Role of predators in the reversal of imbalances in microbial ecosystems - Nature (London), 230, 257 - 258.
- MITSUMURA (S.). 1969 - Bacterial contamination of Fish and shellfish with special reference to occurrence of contamination in a City Fish Market - Symposium : Microbiological Problems relating to cold storage of fish and shellfish - Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 35,
- OKUZUMI (M.) et HORIE (S.). 1969 - Studies on the bacterial flora in the intestines of various marine fish - Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 35, n° 1, 93 - 100.

- OTTO (N.) et NEUMANN (R.G.). 1904 - Ueber einige bacteriologische Wasseruntersuchungen im Atlantischen Ocean - Centralbl. f. Bakt., II Abst. 13, 481, 489, cité par ZOHMIL 1943 et par HILSOV 1955.
- PARTMANN (W.). 1972 - Some effects of defined conditions of freezing and thawing on histological changes in white muscle of carp - I.I.F.-I.I.R., Commission C2 et D1, Varsovie 1972, 77 - 84.
- PETRE (J.A.), MAC CALLUM (W.A.), DYDF (W.J.), IDLER (D.R.), SLAVIN (J.V.), LAINE (J.P.), PTACEK (D.I.) et LAISHLEY (W.). 1968 - Effect of stage of rigor and of freezing-thawing processes on storage quality of refrozen cod - J. Fish. Res. Bd. Can., 25, 299 - 317.
- PISKAREV (A.L.), KRYLOV (G.I.), LUK'JANICA (L.G.). 1969 - Caractéristique des changements qualitatifs des poissons pendant la décongélation - Kolod. Techn., U.R.S.S., 7, 34 - 39.
- FIVNICK (H.). 1949 - Bacteriological and biochemical studies of the rate of decomposition of unfrozen and defrosted cod muscle - Thesis, Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia.
- PODASZEWSKI (Z.), OTTO (B.), STODOLNIK (L.), SWINIARSKA (J.). 1972 - Technological evaluation of double-frozen meat tissue from Baltic herring (Clupea harengus L.) - I.I.F.-I.I.R., Commissions C2 et D1, Varsovie 1972, 85 - 91.
- PREVOT (A.R.), HUET (M.). 1951 - Existence en France du botulisme humain d'origine pisciaire et de Clostridium botulinum Type E - Bull. Acad. Natl. Med., 139, 432 - 435.
- PROCTOR (B.), NICKERSON (J.). 1935 - An investigation of sterility of fish tissues - J. Bact., 30, 377 - 382.
- RACCAISH (H.), BAKER (P.C.). 1973 - Microbial properties of mechanically deboned fish flesh - J. Food Sci., 43, 1675 - 1677.
- RAJ (H.), LISTON (J.). 1961 - a) The detection and enumeration of fecal organisms in frozen sea foods. I) E. coli - Appl. Microbiol., 9, 171-174. b) The detection and enumeration of fecal organisms in frozen sea foods. II) Enterococci - Appl. Microbiol., 9, 295 - 302. c) Survival of bacteria of public health significance in frozen sea foods - Food Techn., 15, 429 - 434.
- REAY (G.), SHEWAN (J.). 1949 - The spoilage of fish and its preservation by chilling - Adv. in Food Res., 2, 343 - 398.
- REY (L.). 1959 - Conservation de la vie par le froid - Ed. Hermann Paris.
- ROPER (M.M.), MARSHALL (K.C.). 1973 - Biological control agents of sewage bacteria in marine habitats - Austr. J. Mar. Freshwater Res., 29, 335 - 343.

- ROSSET (P.), MEZIANE (J.), BOUSSSEL-ETIQUARD (M.), 1974 - Influence de la congélation sur les aliments protéiques - Série synthèses bibliographiques n° 4, Centre de Documentation Internationale des Industries utilisatrices de produits agricoles, Massy.
- ROSSET (P.) et LEBERT (P.), 1976 - L'hygiène et la microbiologie des produits surgelés - Médecine et Nutrition, 6, 357 - 370.
- SANADA (T.), WADA (T.), HASEGAWA (K.), FUJII (Y.), KAMAMURA (K.), ISHIZAWA (S.), 1975 - Studies on the prevention of the freezing of canned Skipjack and Albacore (Orange discoloration). II) Influence of thawing and cooking on the orange discoloration - Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 41, 35 - 41.
- SCHEIDT-NIELSEN (S.), 1901 - Beitrag zur Biologie der marinen Bakterien - Biol. Centralbl., 21, 65 - 71.
- SENG (Y.), 1974 - Processing and utilization of mackerel in Fishery Products - Ed. by F. KREUZER, Fishing News (Books) Ltd., 1974, 147 - 151.
- SHAW (B.), SHEWAN (J.), 1968 - Psychrophilic spoilage in fish - J. Appl. Bact., 31, 89 - 96.
- SHEWAN (J.M.), 1942 - Some bacteriological aspects of fish preservation - Chem. and Ind., 61, 312 - 314.
- SHEWAN (J.M.), 1944 - The bacterial flora of some species of marine fish and its relation to spoilage - Proc. Soc. Agric. Bact. (Abstracts), 15, 55 - 60.
- SHEWAN (J.M.), 1949 - Some bacteriological aspects of handling, processing and distribution of fish - J. Roy. Sanit. Inst., 39, 394 - 421.
- SHEWAN (J.M.), LISTON (J.), 1955 - A review of food poisoning caused by fish and fishery products - J. Appl. Bact., 18, 522 - 533.
- SHEWAN (J.M.), HODKISS (W.), 1957 - Unpublished data - Torry Research Station, Aberdeen, Scotland, cité par SHEWAN (1961).
- SHEWAN (J.M.), HOBBS (G.) et HODKISS (W.), 1960 a - A determinative scheme for the identification of certain genera of Gram negative bacteria, with special reference to the Pseudomonadaceae - J. Appl. Bact., 23, 379 - 390.
- SHEWAN (J.M.), HOBBS (G.) et HODKISS (W.), 1960 b - The Pseudomonas and Achromobacter groups of bacteria in the spoilage of marine white fish - J. Appl. Bact., 23, 463 - 468.
- SHEWAN (J.M.), 1961 - The microbiology of sea-water fish - in "Fish as Food", Ed. by U. BORGSTROM, Academic Press New-York and London, 487 - 560.

- SHEWAN (J.M.). 1962 - The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes - in "Recent Advances in Food Science", vol. 1, Ed. by J. HAYTHORN & J. KYLE DEJTON, London : Butterworths.
- SOMDAN (P.). 1965 - La conservation par le froid des poissons, crustacés et mollusques - Ed. J. B. SAILLIER et fils, Paris.
- SOMDAN (P.). 1977 - Qualité microbiologique des produits de la mer hier et aujourd'hui - Can. Nutr. Diét., 12, n° 3, 199 - 201.
- SPYCK (M.L.), RAY (B.). 1977 - Effects of freezing and storage on micro-organisms in frozen foods : a review - J. Food Protection, 40, 333 - 336.
- SQUIRES (E.W.), HARTSHILL (S.P.). 1965 - Survival and growth initiation of defrosted E. coli as affected by frozen storage - Appl. Microbiol., 3, 40.
- STAEA (A.), STOKES (J.). 1959 - Metabolic injury to bacteria at low temperature - J. Bact., 72, 181 - 185.
- STEWART (M.H.). 1934 - The effects of exposure to low temperatures on the numbers of bacteria in fish's muscle - J. Soc. Chem. Ind. (London), 53, 273T - 278T.
- STEWART (M.H.). 1935 - Keeping quality of haddock from cold storage - J. Soc. Chem. Ind. (London), 54, 92T - 96T.
- STILLE (B.). 1941 - Über die Haltbarkeit von Gefrierfisch und Gefrierfleisch nach dem Auftauen - Z. ges. Milch-Ind., 48, 176 - 177.
- STONG (D.H.), WEISS (K.P.), HIGGINS (L.V.). 1966 - Survival of Clostridium perfringens in starch pastes - J. Amer. Diet. Assoc., 49, 191 - 195.
- SULZBACHER (W.L.). 1951 - Effect of freezing and thawing on the growth rate of bacteria in ground meat - Food Technol., 5, 341 - 343.
- TANNEF (P.). 1945 - Microbiology of food - 2^e Ed. Garsad Press, 790 - 800.
- TARR (H.). 1943 - Rise and fall of bacterial population in fish muscle - J. Fish. Res. Bd. Can., 6, 119 - 123.
- TAYLOR (C.). 1942 - J. Hyg., 42, 284, cité par EPISCOU 1955.
- THATYHEI (P.). 1971 - Hygienic and safety aspects of quality control - in Fish Inspection and Quality Control, Ed. P. KRPUZEK. Fishing News (Books) Ltd., 222 - 225.
- VAN DEN BROEK (M.J.M.), MOSSER (D.A.A.). 1977 - Sublethal cold shock in Vibrio parahaemolyticus - Appl. and Environ. Microbiol., 34, 97 - 98.
- VANDEZANT (C.), NICKELSON (F.). 1972 - Survival of Vibrio parahaemolyticus in shrimp tissue under various environmental conditions - Appl. Microbiol., 23, 34 - 37.

- VFLANKAR (M.L.) et YAMASAKI (P.V.). 1956 - The bacterial flora, trimethylamine and total volatile nitrogen of fish muscle at 0°C (in ice) - Indian J. Fish., 3, 269 - 289.
- VIALLET (F.). 1970 - Statistique et recherche appliquée - Ed. Ochetard et Associés, Paris.
- VIDAL (A.F.). 1966 - Trab. espec. Depart. Pesca., 30 - 46, cité par CAMPILLO 1970.
- WEISSE (S.O.), OSTFUND (C.H.). 1945 - Studies on the death of bacteria at low temperatures. I) The influence of intensity of freezing temperature, repeated fluctuations of temperature and the periode of exposure to freezing temperatures on the mortality of E. coli. - J. Bact., 50, 417 - 439.
- W.H.O./O.M.S. 1968 - Apectos Microbiologicos de la Higiene de Alimentos - (Informe de Comité de Expertos - MS/TMO) - n° 399, Ginebra.
- WOOD (E.). 1940 - Studies on the marketing of fresh fish in Eastern Australia - Australia Commonwealth Council Sci. Ind. Res., Pamph., 109, 1 - 92.
- WOOD (E.). 1953 - Heterotrophic bacteria in marine environments of Eastern Australia, Australian J. Marine Freshwater Res., 4, 160 - 200.
- WOODBURN (J.M.), STRONG (D.H.). 1960 - Survival of Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis frozen in simplified food substrates - Appl. Microbiol., 9, 109 - 116.
- YOSHIMIZU (M.), KIMURA (T.) et SAKAI (M.). 1976 a - Studies on the intestinal microflora of Salmonids. I) The intestinal microflora of fish reared in fresh water and sea water - Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 42, n° 1, 91 - 99.
- YOSHIMIZU (M.), KIMURA (T.) et SAKAI (M.). 1976 b - Studies on the intestinal microflora of Salmonids. II) Effects of artificial transplanting from fresh water into sea water on the intestinal microflora of feeding and non-feeding fish - Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 42, n° 8, 863 - 873.
- YOSHIMIZU (M.), KIMURA (T.) et SAKAI (M.). 1976 c - Studies on the intestinal microflora of Salmonids. V) The intestinal microflora of the Anadromous salmon - Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 42, n° 11, 1291 - 1298.
- ZALESKI (S.), KOŁAKOWSKI (E.), PODESZEWSKI (Z.), CHODYNICI (A.), ŻOJKIEWICZ (Y.), KOŁAKOWSKA (A.), STODOLNIK (L.) et JAKUBOWSKA (L.). 1972 - Comparative investigations into the keeping time and quality of frozen fish sausages and pies produced from fresh and frozen material - I.L.F.-I.L.R., Commissions C2 et D1, Varsovie 1972, 113 - 121.

- ZOBELL (C.F.) et SAC FREN (C.F.). 1935 - The lethal action of sunlight upon bacteria in sea water - Biol. Bull., 61, 93 - 104.
- ZOBELL (C.F.). 1941 - Bacteria of the marine world - Science Monthly, 55, 320-330, cite par ZOBELL, 1946.
- ZOBELL (C.F.), UPHAM (H.C.). 1944 - A list of marine bacteria - Bull. Scripps Inst. Oceanogr. Univ. California, 1944.
- ZOBELL (C.F.). 1948 - Marine Microbiology - Wellesham, Mass. U.S.A., Published by the Chronica Botanica Company.

R E S U M E :

La décongélation pour la transformation industrielle du poisson est actuellement l'étape la plus négligée de la chaîne du froid.

Pour des raisons d'ordre hygiénique, la réglementation française (arrêté ministériel parv au J.O. du 31 juillet 1974) a fixé certaines conditions de décongélation des denrées animales et d'origine animale; celle-ci doit être effectuée à l'abri des souillures dans une enceinte à une température comprise entre 0 et +4°C, en l'absence de méthode autorisée.

Dans le cadre des travaux réalisés au laboratoire d'essais frigorifiques de l'Institut Scientifique et Technique des Pêches Maritimes, l'auteur a suivi l'évolution quantitative et qualitative de la flore bactérienne du poisson durant la décongélation et à l'issue du processus.

Puis il a analysé comparativement l'évolution de la flore bactérienne et la remontée en température du poisson décongelé par divers procédés tels que :

- l'air calme
- l'immersion dans l'eau
- l'air pulsé humidifié
- la vapeur d'eau sous vide
- les micro-ondes.

Les essais ont été effectués sur :

- des sardines : prélevées sur des lots de diverses provenances, et congelées en plaques de 65 mm et 100 mm d'épaisseur
- des thons : de différentes tailles allant de 1 à 70 kg.

Dans le cas de la décongélation on a pu mettre en évidence l'importance du temps de latence relativement long avant la multiplication bactérienne; ce phénomène est surtout fonction de la température : par exemple en moyenne, 15 heures et 38 heures respectivement à +20°C et +4°C pour l'air calme, durées nécessaires à la décongélation des plaques de 65 mm d'épaisseur; en revanche, à température constante, le temps de latence est peu sensible à la vitesse de décongélation.

Aussi, si on excepte le cas des thons de taille moyenne ou plus volumineux, où un pré-découpage peut être conseillé avant décongélation, les méthodes relativement rapides utilisant convenablement l'eau, l'air pulsé ou la vapeur sous vide ou très rapides (micro-ondes) donnent des résultats bactériologiques satisfaisants.

Par contre, les décongélation en air calme à +20°C et à +4°C peuvent entraîner un accroissement de la population bactérienne lors du traitement du poisson avant stabilisation ou stérilisation.

Si l'on opte pour la qualité hygiénique comme critère principal de choix de la méthode à adopter et en tenant compte des impératifs de la pratique industrielle, l'emploi d'un procédé rapide doit être recommandé (même si une température assez élevée doit être utilisée), car il contribue au maintien de la qualité bactériologique du produit avant traitement.