

# ESSAI DE CONSERVATION DU POISSON DE CHALUT DANS LA GLACE A L'AUREOMYCINE

par France SOUDAN, J.-Robert CREPEY et Maurice DUBOST

De nombreux travaux ont montré que l'altération du poisson frais dans la glace ou à température ordinaire est due principalement aux bactéries. Aussi s'emploie-t-on depuis longtemps déjà à en réduire les effets par les procédés antibactériens usuels. L'utilisation des antibiotiques <sup>(1)</sup> a été tentée (notamment par TARR au Canada) pour ainsi dire dès leur découverte, mais elle soulève un certain nombre d'objections théoriques et pratiques qui ont conduit à multiplier les essais dans les différents pays producteurs de poisson. De tous les antibiotiques mis en œuvre, seules certaines tétracyclines ont été actives vis-à-vis des bactéries du poisson ; la plus active, l'aureomycine (chlorotétracycline ou CTC) a été l'objet presque exclusif des essais pratiques <sup>(2)</sup>.

Malgré cette abondance inaccoutumée de documents, de nouveaux essais ont paru nécessaires pour préciser notamment :

- 1) les conditions de la fabrication industrielle de la glace ;
- 2) l'augmentation de la durée de conservation à attendre pour du poisson de chalut dans les conditions habituelles de la pêche française ;
- 3) les avantages respectifs d'un trempage dans une solution ou d'une mise dans la glace, additionnées l'une et l'autre de CTC ;
- 4) les risques de rétention d'antibiotique par le poisson <sup>(3)</sup>.

## I. — *Fabrication de la glace.*

La plus grande partie de la glace employée à bord des chalutiers français est de la glace en pain concassée. La répartition homogène d'une très petite quantité de substance dans une telle glace soulève quelques difficultés puisque le processus de cristallisation entraîne la concentration des impuretés dans la région axiale du pain, laquelle se solidifie en dernier lieu. La répartition est d'autant plus difficile que la quantité d'additif est relativement plus faible.

La dose de CTC qui donne les meilleurs résultats, d'après les essais connus, est de 5 à 10 mg par kg de glace. Il faut donc avoir un système d'homogénéisation particulièrement efficace.

Le système qui consiste à maintenir le milieu liquide en agitation par un jet d'air comprimé a donné des résultats contradictoires suivant les auteurs qui l'ont étudié et demande une installation spéciale. Un autre système, applicable n'importe où et qui semble plus efficace, est d'augmenter

(1) Nous rappelons que l'addition d'antibiotiques aux denrées destinées à l'alimentation de l'homme n'est pas autorisée en France.

(2) La bibliographie est si abondante sur ce sujet que nous renonçons à l'énoncer. Nous nous en excusons auprès des auteurs dont nous avons utilisé les travaux pour préparer cette étude.

(3) Nous remercions ici la société Novacel qui nous a procuré la Blanose.

la viscosité du milieu par des gélifiants. Les producteurs ont mis sur le marché un mélange d'auréomycine, de stabilisant et de gélifiant mais il ne nous a pas donné satisfaction lors des premiers essais :

l'auréomycine se concentrait dans la région axiale sur la plus grande partie de la hauteur et dans la zone corticale à l'extrémité inférieure du pain ;

son sel de fer colorait intensément en rouge brun les régions à forte concentration.

Aussi, avons-nous préparé notre propre mélange comprenant pour un litre d'eau :

chlorhydrate d'auréomycine pur .....	10 mg
carboxyméthylcellulose (Blanose RA 295) .....	100 mg
acide citrique pur RP .....	80 mg

**Technique.** La fabrication a porté sur 54 mouleaux de 40 kg représentant 2 500 litres de solution. Celles-ci a été préparée par dilution successive d'une solution concentrée, obtenue en mélangeant des solutions aqueuses de chaque produit pris indépendamment.

a) 10 doses de carboxyméthylcellulose (CMC) ont été mises en solution chacune dans 5 l d'eau tiède en versant lentement la poudre CMC en pluie dans l'eau agitée mécaniquement ; les 10 fractions obtenues ont été mélangées dans un bac de 100 litres par pompage en circuit fermé.

b) 25 g de chlorhydrate d'auréomycine ont été dissous dans 1 litre d'eau. La solution a été étendue progressivement à 2, 5, 10 puis 50 l, en maintenant le pH à 6 par addition d'acide citrique.

c) Les solutions a) et b) ont été mélangées et agitées par pompage en circuit fermé pendant 10 minutes en vue d'homogénéisation.

Les 100 l de solution ainsi obtenus ont été injectés dans le courant d'eau pendant le remplissage du réservoir de 2 500 l alimentant normalement les mouleaux. Le mélange ( 100 l de solution + 2 400 l d'eau ) contenant 10 mg CTC par kg a été acidifié à nouveau pour ajuster le pH à 6 et agité par pompage en circuit fermé pendant 15 minutes.

d) Les 54 mouleaux ont alors été remplis comme de coutume. Ils ont été démoulés après 48 h à — 7°. La glace a été entreposée à — 5°.

La glace fabriquée était nettement colorée en jaune citron surtout dans le culot. La teneur en CTC a été déterminée tout d'abord dans la première et dans la dernière série des pains et dans différentes sections d'un même pain, puis, au cours du temps, dans la glace concassée.

Les dosages ont été effectués à la fois par turbidimétrie de cultures de *Staphylococcus aureus* et par diffusion en culture de *Bacillus cereus* (souche ATCC 9634 ).

Age du stock (en jours)	Emplacement du prélèvement (1)	1 <sup>re</sup> rangée de mouleaux	Dernière rangée de mouleaux
5	haut milieu culot milieu	2,3 5,4 15,7 ext : 3,65 médián : 3 int : 15,3	2,15 5,2 24,5
22	glace concassée	6,95	6,60
43	»	8,0	9,1
53	»	— id —	— id —

TABLE. 1. — Teneur de la glace en auréomycine, exprimée en mg/kg.  
(1) Figure 1 ; les tranches prélevées avaient environ 10 cm d'épaisseur.

Les résultats sont donnés dans le tableau 1. Ils montrent que la concentration en auréomycine varie beaucoup d'un point à l'autre des pains malgré l'addition d'épaississant. L'auréomycine se

répartit dans la glace, comme il fallait s'y attendre, d'après la progression de la congélation. La répartition est à peu près la même dans des pains qui ont été remplis au début ou à la fin de la fabrication <sup>(1)</sup>.

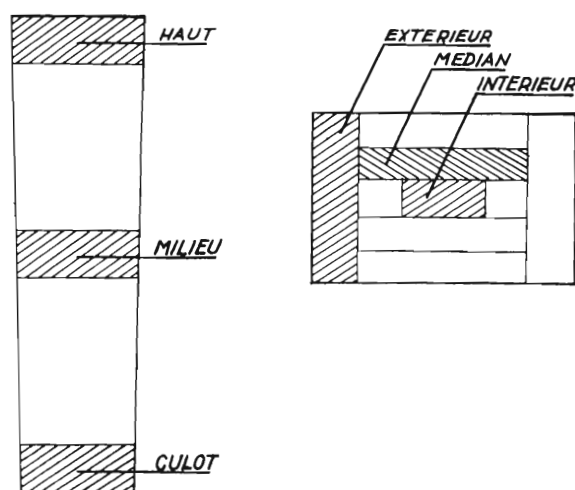


FIG. 1. — Méthode de découpage des pains de glace dont l'analyse est donnée au tableau 1.

Pour l'utilisation, la glace a été concassée en morceaux d'un poids maximum de 100 g. La quantité d'auréomycine était alors équivalente dans des prélèvements de un kg faits au hasard ; elle s'est maintenue pendant les deux mois de l'expérience dans le stock gardé à  $-5^{\circ}$  au laboratoire, dans l'intervalle des variations admissibles pour de tels dosages.

Des mesures de pH, faites dans les différentes sections des pains aussitôt après la fabrication, ont montré que le pH différait peu d'un point à l'autre :

	première rangée	dernière rangée
haut .....	5,6	5,6
milieu .....	5,8	5,9
culot .....	6	5,7

**Transport.** La glace en pains a été transportée de Paris à Boulogne-sur-Mer en camion isotherme. Elle a été placée pendant 12 h dans une chambre à  $-20^{\circ}$  pour la sécher, puis elle a été concassée et mise dans des sacs en papier. Les sacs ont été embarqués sur le navire océanographique « Thalassa » où ils ont été stockés à  $-25^{\circ}$  jusqu'à leur utilisation.

De la glace d'eau douce fabriquée et transportée en même temps a été ensachée et entreposée dans les mêmes conditions. Les deux sortes de glace ont été transférées dans la chambre à  $0^{\circ}$  assez longtemps avant l'emploi pour se trouver dans les conditions ordinaires de température.

## II. — Essais de conservation.

Les irrégularités de la pêche nous ont obligés à modifier quelque peu le programme primitif de l'expérience. C'est ainsi que nous avons dû opérer en plusieurs jours sur des espèces variées au lieu de travailler d'un coup sur une capture homogène de poissons de même espèce. Certaines séries se sont trouvées constituées d'un mélange de poissons entiers ou vidés et étêtés, faute d'avoir une quantité suffisante de poissons semblables. La liste des poissons utilisés est donnée dans le tableau 2.

(1) Une fabrication ultérieure dans laquelle le mélange a été brassé à chaque stade de la préparation avec un agitateur mécanique a fourni une glace plus homogène.

Chaque fois, le lot a été divisé en 2 parts, l'une conservée dans la glace CTC, l'autre dans la glace ordinaire. Le poisson était mis dans des coffres en aluminium (55 × 35 × 20 cm) pour pouvoir être transporté facilement du bateau à l'entrepôt et au laboratoire. La quantité de glace

Date	Station du bateau	Lat. N	Long. E Gr	Lieu-dit	Profondeur chalutage (en m)	Espèce	Longueur (en cm)	Parage
1 <sup>er</sup>	276	70° 20' 5	17° 24' 8	Accores	160 à 210	Cabillaud	70 à 90	nul
2	279	69° 57' 8	16° 41' 5	nord West bank Coin SO Malangen	160 à 360	Lieu noir	70 à 80	vidage
4	284	68° 20' 8	11° 11' 0	Rostbank	200 à 230	Lieu noir	70 à 80	nul ou étêtage et vidage
6	288	63° 14' 8	5° 34' 3	Plateau du Storrenge	160 à 185	Eglefin	25 à 35	nul ou vidage
11	298	62° 31' 6	1° 51'	Nord Tampen bank	560 à 575	Lieu noir	70 à 80	nul

TABLE. 2. — Conditions de pêche et de parage du poisson mis en étude sur la « Thalassa » en décembre 1961.

employée était environ la moitié du poids du poisson. Une partie était disposée sous le poisson, une autre au-dessus, le reste étant mélangé avec lui. La conservation a été faite dans une ambiance à + 1° C sauf pendant le transport Boulogne-Paris où la température du camion isotherme n'a pas été contrôlée. La fusion de la glace a été lente. Les coffres ont été arrimés de façon à ce que l'eau de fusion s'égouttant par les fonds perforés ne provoque jamais d'entraînement du CTC dans les coffres témoins et puisse être évacuée facilement pendant le stockage.

Un essai de traitement par trempage a été effectué sur des lieux noirs. Des tronçons de 15 cm de long environ ont été trempés pendant 2 à 3 minutes dans une solution d'auroémocine à 50 mg par litre ; après un égouttage de deux minutes environ, ils ont été enveloppés dans une feuille de papier sulfurisé et rangés dans un coffre d'aluminium avec de la glace ordinaire. Des témoins ont été préparés de la même manière en remplaçant le trempage par un lavage à l'eau douce.

Tous les coffres ont été déchargés à l'arrivée du bateau (c'est-à-dire de 4 à 14 jours après leur mise en glace) et ont été transportés à la station de Boulogne-sur-Seine où ils ont été stockés dans l'ambiance à + 1°.

### III. — Progression de l'altération pendant la conservation.

Des échantillons ont été prélevés en cours d'entreposage, simultanément dans des caisses avec glace à l'auroémocine, et dans leurs homologues avec glace ordinaire. Les prélèvements ont été de 6 à 7 églefins, ou de 3 à 4 lieux de chaque type, ou de 2 à 3 morues.

L'altération a été suivie en déterminant l'indice d'altération <sup>(1)</sup> et sur certains échantillons la teneur en bases azotées volatiles. Les résultats sont donnés dans les tableaux 3 et 4.

Les indices d'altération des poissons conservés dans la glace à l'auroémocine sont systématiquement plus bas que ceux des témoins en glace ordinaire. La différence porte surtout sur les caractères extérieurs ; elle tend à augmenter lorsque la conservation se prolonge ; elle est moins apparente à la dégustation. Elle correspond en fait à une prolongation de durée de un jour et demi environ pour du poisson en glace.

(1) L'indice d'altération exprime au moyen d'une cotation organoleptique chiffrée l'état d'altération du poisson. Il a été défini par l'un de nous dans les *Annales de la Nutrition et de l'Alimentation*, 11 (1957) : 1-24.

Les teneurs en bases azotées volatiles sont plus basses dans les échantillons traités que dans les témoins pendant le début de la conservation. En approchant de la période où le poisson n'est

Durée après pêche (jours)	Morue		Lieu noir				Eglefin				
			entier		éviscéré étêté		entier		éviscéré		
	A	T	A	T	A	T	A	T	A	T	
12							2,0		2,0	2,1	
14			2,2		1,6	1,8				2,5	
15						1,7					
17	1,7	2,9			2,0	2,06	2,45	3,15			
20	2,1	2,9									
22			3,0	3,1	2,3	2,9					
23							4,0	4,17	2,7	3,57	
25			3,38	4,0	2,8	3,06					

TABLE. 3. — Indices d'altération. A échantillon traité à l'auréomycine, T échantillon témoin.

plus consommable, elles deviennent équivalentes ou même plus fortes. Leur progression usuelle au cours du temps n'est d'ailleurs pas respectée dans le cas des lieux étêtés et éviscérés, ce qui indique une certaine hétérogénéité du lot.

Durée après pêche (jours)	Azote volatil total						Triméthylaminé								
	Morue		Lieu noir				Eglefin entier	Morue		Lieu noir				Eglefin entier	
			entier		étêté éviscéré					entier		étêté éviscéré			
	A	T	A	T	A	T	A	T	A	T	A	T	A	T	
12							0,786	1,132						0,252	0,479
14			0,762	1,003					0,249	0,449					
17	2,886	3,186			2,366	2,249	1,893	2,431			1,026	1,325			
22			1,925	1,985	2,977	1,933			0,836	1,089	2,468	1,353			
25			2,285	3,127	2,668	2,845			1,604	1,363	1,991	1,951			

TABLE. 4. — Teneurs en azote des bases azotées volatiles en p. 100 d'azote total. A échantillon traité à l'auréomycine, T échantillon témoin.

La prolongation de conservation susceptible d'être obtenue par traitement à l'auréomycine peut donc paraître plus ou moins longue selon que l'appréciation est faite au moyen de l'aspect extérieur du poisson, du dosage des bases azotées volatiles ou de la dégustation seule.

Notons que le supplément de conservation obtenu par vidage du poisson a été supérieur dans tous les cas à celui obtenu par addition d'auréomycine dans la glace.

#### IV. — Pénétration de l'auréomycine dans le poisson.

**Préparation des échantillons.** La plupart des dosages ont été effectués dans la chair. Ils ont été faits par la méthode microbiologique de diffusion en utilisant *B. cereus* comme organisme sensible. Les détails techniques du dosage sont donnés en annexe.

Les muscles ont été séparés, tantôt du poisson entier (églefin), tantôt à partir d'une section de 12 à 15 cm de long prélevée sur chacun des gros poissons constituant le lot. La chair homogénéisée a servi à préparer les divers extraits nécessaires au dosage des bases azotées volatiles ou de l'auroéomycine. Dans deux cas des extraits ont été faits en double sur la même chair afin de mesurer l'étendue des variations possibles dans les résultats.

Enfin, une tentative a été faite pour déterminer le gradient de la concentration en CTC à partir de la peau. Trois fois des tranches ont été découpées de manière à dégager :

- a) la peau,
- b) une couche musculaire de 2 cm d'épaisseur environ,
- c) un cylindre de muscles de 5 à 6 cm de diamètre autour de la colonne vertébrale.

**Teneurs résiduelles en auroéomycine.** Dans tous les échantillons la teneur en auroéomycine est restée faible : ce n'est que dans la peau qu'elle atteint ou dépasse le microgramme par gramme (tabl. 5). Les deux examens en coupe montrent que dans les espèces à peau épaisse (morue, lieu noir) la pénétration d'auroéomycine dans la chair est minime dès le premier centimètre sous la peau.

Durée après pêche (jours)	Morue éviscérée			Lieu noir étêté, éviscéré						Eglefin	
	peau	surface	profond	entier	moyenne	peau	surface	profond	tranches	entier	éviscéré
12									< 0,15	0,38	0,28
14				0,072	0,088					0,74	0,80
15											
17	1,03	< 0,23*	*		0,074						
					0,095						
20		0,83*	*						0,033		
22				0,049*	0,061	1,87	0,18	0,020			
				0,067*							
23										0,66	0,48
25				0,092*	0,095*						

REMARQUE. — Les extraits de muscle de morue contenaient tous des inhibiteurs de *B. cereus* de sorte que les mesurs sur morue sont contestables. Une certaine inhibition s'est également manifestée dans les extraits de lieu noir marqués d'une astérisque. Aucune inhibition n'a été constatée avec l'églefin. La présence de substances inhibitrices semble donc liée à l'espèce du poisson et aussi à son état d'altération puisqu'elle a été constatée surtout sur les échantillons les plus anciens.

TABLE. 5. — Teneurs en auroéomycine (en µg/g de chair).

Elle est nettement plus importante dans les espèces à peau fine et peu couvertes d'écailles comme l'églefin. La différence se trouve accentuée dans le cas présent par le fait que les églefins étaient beaucoup plus petits que les lieux (environ 35 cm au lieu de 60 à 70 cm) et avaient par conséquent une surface de contact avec la glace plus grande, à volume égal.

Dans l'essai de trempage, la pénétration a été faible. Notons que la mesure du 20<sup>e</sup> jour a été faite sur des tranches de 2 à 3 cm d'épaisseur découpées aux extrémités des tronçons, c'est-à-dire sur la région qui aurait dû retenir le plus d'auroéomycine.

Les mesures étagées au cours de la conservation n'indiquent pas de variations de la teneur au cours du temps. Un accroissement aurait pu se produire par suite du contact prolongé avec la glace ou, au contraire, une diminution par suite de l'oxydation progressive de l'auroéomycine retenue : rien ne permet de conclure dans un sens ou dans l'autre.

Deux essais ont été faits pour mesurer la disparition de l'auroéomycine pendant la cuisson. Ils ont porté sur le lieu noir étêté, éviscéré du 17<sup>e</sup> jour.

Quelques tranches ont été cuites dans l'eau salée bouillante pendant 15 minutes, d'autres ont été frites pendant 8 minutes dans l'huile d'arachide. La mesure sur poisson frit a été faite à partir

d'un extrait en solution tampon pH 4,5 (50 g chair + 50 ml) pour éviter l'entraînement d'huile nuisible au dosage. Les résultats ont été inférieurs à 0,034 µg par g de chair frite et à 0,046 µg par g de chair court-bouillonnée. Rappelons que la chair crue contenait en moyenne 0,085 µg d'auréomycine par gramme de chair.

**Essais complémentaires.** Les résultats exposés ci-dessus étant moins satisfaisants que ceux relatés habituellement par les auteurs, nous nous sommes demandés si le contact avec l'auréomycine avait été suffisant : la glace avait fondu très lentement et la pénétration avait pu être ralentie par la peau épaisse des gros poissons. Deux nouveaux essais ont été entrepris pour contrôler les premiers.

1) Des morues de 80 à 90 cm de long pêchées depuis un jour ont été mises dans de la glace 8,3 mg/kg d'auréomycine et placées dans une ambiance à + 4° pour que la glace fonde. Des témoins de même origine ont été mis en même temps dans la glace ordinaire.

Les résultats ont été analogues aux précédents (tabl. 6).

	Délai en jours depuis la pêche															
	1		7		12		15		20		26					
Mise en glace 8.3 mg/kg ..	IA	A	IA	A	IA	A	IA	A	IA	A	IA	A				
Morue { traitée	2,20		2,5	0,077	2,5	0,23	2,7	0,23	3,0	<0,08	3,5					
Morue { témoin	2,20		2,4		3,0		3,7		4,0							
	1		5		8		11		13		16		19		22	
Trempage 10 min sol. 50 mg/l ..	IA	A	IA	A	IA	A	IA	A	IA	A	IA	A	IA	A	IA	A
Eglefin .....	0,35															
Dorade t .....			< 0,09		2,5		< 0,036				2,5		< 0,06		3,5	
a .....			0,06													
Dorade { traitée			2,2		< 0,02		2,60		0,036		3,0		< 0,11			
Dorade { témoin			2,6				2,92				3,3				3,2 *	
Merlan { traité	2,2		< 0,06		2,54		0,009				3,0		< 0,02			
Merlan { témoin	2,3				2,54				3,5		< 0,02				3,8 *	

TABLE. 6. — Doses d'auréomycine exprimées en µg/g de chair (méthode de diffusion avec *B. cereus*).  
IA indice d'altération, A teneur en auréomycine, t extrait en solution tampon pH 4,5, a extrait dans l'acétone chlorhydrique, \* non dosable.

La pénétration d'auréomycine est du même ordre de grandeur ; elle n'augmente pas au cours du temps.

Le poisson traité se conserve un peu mieux que le témoin, mais la différence devient sensible surtout quand il cesse d'être consommable. Les caractères les plus marquants sont une formation moindre de mucosités jaunâtres sur la peau, un développement plus faible des odeurs nauséabondes dans les branchies et, fait surprenant, une tendance à rougir précocement le long de la colonne vertébrale.

2) Des dorades et des merlans (indice d'altération initial 2,2) ont été trempés 10 minutes dans un bain d'auréomycine à 50 mg/l, puis mis en caisse avec de la glace ordinaire et conservés à + 4°. Des témoins ont été gardés en glace sans trempage préalable.

Ici, la pénétration d'auréomycine a été indécélable aussi bien dans la dorade protégée par une peau épaisse très couverte d'écaillés que dans le merlan à peau fine et écaillés menus.

L'état du poisson traité a été meilleur que celui du témoin, mais, là encore, la différence a été notable surtout vers la fin de la conservation. L'accroissement de la durée de conservation a été de deux jours environ, c'est-à-dire équivalent à celui trouvé dans les essais de la « Thalassa ».

Une nouvelle tentative de conservation à bord de la « Thalassa » lors de sa récente campagne sur les côtes de Mauritanie, a d'ailleurs confirmé à nouveau ce résultat. Elle a porté sur trois espèces de merlus qui ont été soit conservées en glace CTC, soit trempées dans une solution d'auréomycine avant d'être mis en glace ; une autre partie avait été mise en glace comme témoin. Les différences dans la conservation ont été plutôt moins nettes que précédemment et ont porté sur les mêmes points.

Ces résultats paraîtront modestes par rapport à certains annoncés à l'étranger. Ils indiquent tout au moins que le bénéfice à attendre de l'auréomycine est aléatoire. Celui-ci varie en particulier avec les conditions de travail ; il peut être plus ou moins apparent suivant l'état habituel dans lequel le poisson est consommé dans les différents pays.

### **Conclusions**

1° La fabrication de glace à l'auréomycine demande un certain travail pour la préparation des solutions. Dans les conditions usuelles, la concentration en auréomycine est variable d'un point à l'autre des pains de glace en dépit d'une addition d'épaississant et du soin pris pour homogénéiser le milieu au moment du remplissage. Il est indispensable de broyer la glace assez finement et de la mélanger pour remédier à cet inconvénient.

2° La différence d'état entre les poissons traités et les témoins est sensible surtout quand le poisson approche de la limite où il est inconsommable. Elle porte particulièrement sur des caractères extérieurs tels que la pigmentation de la peau, la formation de mucus ou l'odeur des branchies ; elle est plus apparente que réelle. En moyenne, elle n'excède pas celle correspondant à deux jours de conservation en glace.

Les résultats obtenus par trempage dans une solution d'auréomycine, puis conservation dans de la glace ordinaire sont à peu près les mêmes que ceux obtenus en utilisant de la glace contenant de l'auréomycine.

3° Les quantités d'auréomycine décelables dans la chair du poisson ont été fréquemment ( 47 p. 100 des mesures ) inférieures au minimum de sensibilité du dosage ; elles ont été souvent voisines de 0,2 µg par g (moyenne des 30 mesures faites 0,17 ) ; elles ont été au maximum de 0,7-0,8 µg. Elles sont indosables après cuisson.

Les variations n'ont paru liées ni à la durée du traitement, ni à l'espèce du poisson, ni à son état d'altération.

*Note :* Travail des laboratoires de l'Institut des Pêches maritimes et des laboratoires de recherches biochimiques de la Société des usines chimiques Rhône Poulenc.



## ANNEXE

### Dosage de l'auréomycine dans le poisson

La faible concentration d'auréomycine qui risque d'exister dans du poisson traité normalement impose de faire le dosage par la méthode la plus sensible, c'est-à-dire la méthode microbiologique par diffusion utilisant *B. cereus* comme organisme test.

L'extraction de l'auréomycine à partir de poisson en vue du dosage a été envisagée de deux manières :

soit par une solution tampon pH 4,5 (phosphate monopotassique à 13,7 g par litre),  
soit par l'acétone chlorhydrique 650 ml acétone + 15 ml HCl ( $d = 1,19$ ).

La chair (50 g dans tous nos essais) est broyée au mixeur avec 100 ou 50 ml de solution tampon, ou avec 100 ml d'acétone chlorhydrique. Le mélange est centrifugé 15 mn à 3 000 tours/mn et la solution surnageant est décantée.

En cas d'extraction en milieu tampon, la solution est employée telle quelle ; en cas d'extraction acétonique, l'extrait est concentré sous vide jusqu'à disparition de l'acétone puis ramené à un volume connu en ajustant le pH entre 4,0 et 4,5 par la soude 0,1 N.

La concentration de l'extrait tamponné est donc plus faible que celle du poisson tandis que celle de l'extrait acétonique peut lui être équivalente et permet de ce fait de déceler des quantités plus petites d'auréomycine.

#### ***Efficacité et reproductibilité de la méthode d'extraction.***

Les deux méthodes ont été comparées en préparant un extrait de poisson en présence d'une solution d'auréomycine dans les conditions suivantes :

**Essai 1.** Addition de 1  $\mu\text{g}$  par 100 g de chair de lieu jaune.

- a) 50 g chair + 100 ml tampon pH 4,5 + 2,5 ml sol. CTC à 0,2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .
- b) 50 g chair + 50 ml tampon pH 4,5 + 2,5 ml sol. CTC à 0,2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ,
- c) 50 g chair + 100 ml acétone chlorhydrique + 2,5 ml sol. CTC à 0,2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ; 30 ml de liquide limpide recueillis ont été concentrés sous vide, amenés à pH 4,5 par la soude, puis complétés à un volume connu.

La quantité d'auréomycine ajoutée a été retrouvée exactement dans l'extrait acétonique après addition d'une surcharge au moment du dosage pour atteindre la limite perceptible.

Le dosage n'a pu être fait dans les extraits tamponnés qui contenaient eux-mêmes un inhibiteur de croissance de *B. cereus*.

**Essai 2.** Addition de 1  $\mu\text{g}$  par gramme de chair de lieu noir (supposée à 80 p. 100 d'eau).

- a) 50 g chair + 50 ml sol. tampon pH 4,5 + 2,5 ml sol. CTC à 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ,
- b) 50 g chair + 100 ml acétone chlorhydrique, repris 30 ml concentrés à 15 ml.

Les teneurs trouvées ont été respectivement 0,30 et 0,47  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , ce qui correspond à 27  $\mu\text{g}$  et 33  $\mu\text{g}$  par 50 g de chair, soit 54 et 66 p. 100 des quantités mises.

La méthode à l'acétone a paru préférable et a été retenue pour la suite de l'étude. La confiance qui peut être accordée à la méthode ressort des résultats exposés dans le tableau 5.

Trois essais faits en double ont donné les résultats suivants : 0,74 et 0,80 ; 0,074 et 0,095 ; 0,049 et 0,067.

Un essai fait en double comprenant l'addition de 1 µg de CTC par g à un échantillon qui en contenait 0,095 par lui-même, a donné 0,49 et 0,46 µg/g.

L'accord est satisfaisant pour les valeurs absolues les plus élevées, il est médiocre pour les valeurs faibles, mais du point de vue de l'interprétation, les valeurs obtenues en double ont même signification. Par ailleurs, les mesures faites sur des échantillons ayant subi le même traitement sont comparables. On peut donc admettre que la reproductibilité est assez bonne ; par contre, le taux d'extraction est bas.

**Spécificité de la méthode.**

Nous avons constaté dans les essais préliminaires qu'un extrait tamponné de lieu jaune inhibait la croissance de *B. cereus* comme CTC.

Ce fait attribué tout d'abord au mode d'extraction s'est reproduit avec les extraits acétoniques de morue et parfois de lieu (résultats marqués d'une astérisque dans les tableaux 5 et 6). L'auréole d'inhibition légère dans certains cas a été assez grande dans d'autres pour rendre la mesure illusoire. Elle apparut plus fréquente et plus intense quand la durée de conservation augmentait, elle pouvait de ce fait être attribuée à quelques constituants spécifiques de telle ou telle espèce ou à des produits se formant pendant l'altération du poisson.

Une expérience complémentaire faite sur cinq espèces (maquereau, dorade, grondin, églefin, carrelet) autres que celles utilisées tout d'abord, a montré qu'aucune des deux hypothèses ne peut être retenue (tabl. 7). L'inhibition perceptible tout d'abord seulement avec certains extraits concentrés

Espèces	Durée de conservation dans la glace (en jours)															
	1		3		5		7		10		12		15		17	
	IA	A	IA	A	IA	A	IA	A	IA	A	IA	A	IA	A	IA	A
Maquereau t.....	1,25	0					2,0	< 0,017			2,5	0				
Dorade t.....					2,63	0					3,0	0			3,3	0
a.....				*	2,63	0,4*										
Grondin a.....			1,45	0,16					2,3	0,018			3,5	0		
Eglefin a.....	2,04	0,03					2,8	0,02			3,1	0				
Carrelet a.....	0,87	0					1,6	0,03			2,2	0				

TABLE. 7. — Doses d'auréomycine simulées exprimées en µg/g de chair (méthode de diffusion avec *B. cereus*) ; IA indice d'altération, A teneur en auréomycine, t extrait en solution tampon pH 4,5, a extrait dans l'acétone chlorhydrique, \* ces extraits dilués au 1/2 n'ont pas inhibé du tout *B. cereus*.

est devenue manifeste avec tous le 9<sup>e</sup> jour de conservation en glace, puis a disparu complètement le 14<sup>e</sup> jour. Ceci pourrait correspondre à l'action des substances formées transitoirement pendant l'altération ou qui s'extrait à certains stades d'altération et non à d'autres. Notons que le volume de solution acétonique décanté après centrifugation ne cesse de décroître pendant l'altération.

Une autre difficulté a été rencontrée pour l'application de la méthode aux extraits de poisson. Dans trois cas où la conservation a duré plus de 20 jours, la diffusion de l'auréomycine a été perturbée au point qu'il a fallu quadrupler la dose normale pour obtenir une zone d'inhibition de même taille.

La sensibilité de la mesure est alors diminuée de telle sorte que l'évaluation sur des extraits pauvres en auréomycine, comme ceux qui étaient en examen, devient impossible.