

2. Technologie des semi-conserves d'anchois salés

2.1 INTRODUCTION

Plusieurs espèces de poisson sont salées à travers le monde pour augmenter leur durée de conservation et modifier leur qualité gustative et leur apparence. Elles sont alors préparées sous différentes formes et recettes appréciées par des millions de personnes dans le monde. Certains poissons salés font même l'objet d'un important commerce régional et international. C'est le cas des semi-conserves d'anchois tel que étayé au Chapitre 1.

Dans le but de mieux maîtriser la fabrication du poisson salé et garantir des produits sains et de bonne qualité, les techniciens et professionnels ont développé des codes d'usage pour le salage du poisson et des normes pour divers produits salés.

Pour certains produits qui font l'objet d'un commerce international, les codes et normes sont développés par le *Codex Alimentarius*. C'est ainsi que celui-ci a développé une norme pour les poissons salés et les poissons salés séchés de la famille des Gadidae (Codex Alimentarius, 2003b), afin d'en faciliter le commerce et harmoniser les exigences sanitaires et de qualité. De la même façon le *Codex Alimentarius* vient de finaliser le code d'usages pour le poisson salé (Codex Alimentarius, 2003c). Malheureusement, il n'existe pas encore de norme *Codex* internationale pour les anchois salés, mais plutôt des normes nationales et/ou des codes d'usages nationaux.

D'une façon générale: «*peuvent être considérées comme semi-conserves d'anchois au sel, des préparations produites exclusivement à partir du poisson appartenant à la famille des Engraulidés, ayant subi une maturation (ou anchoitage) au sel sec pendant une durée minimale de 2 à 3 mois pour être conditionnés entiers ou élaborés dans un emballage étanche au moins aux liquides*». Les dites semi-conserves ne doivent contenir ni des germes pathogènes ou de putréfaction ni des additifs non autorisés ni des substances toxiques à des taux non tolérés.

Comme il a été signalé au Chapitre 1, la famille des Engraulidés comprend un seul genre (*Engraulis*) et sept espèces dont les plus utilisées pour la fabrication de l'anchois salé sont: *Engraulis encrasicolus* (anchois européen), *E. anchoita* (anchois argentin) et *E. japonicus* (anchois japonais). Certaines réglementations nationales, telle la norme française NF 45-066 n'autorise l'appellation «anchois» que pour les produits obtenus à partir des espèces *Engraulis encrasicolus* et *Engraulis anchoita*. La réglementation espagnole quant à elle stipule que les semi-conserves d'anchois sont obtenues par salage-maturation de l'anchois européen *E. encrasicolus* (Veciana Nogues, Vidal Carou et Marine Font, 1990). Mais, en raison de la diminution des captures de cette espèce à partir de 2002, la tendance actuellement est le recours à l'utilisation de l'anchois argentin (*E. anchoita*). Parfois, la sardine est également anchoitée, dans certains pays comme le Maroc, pour fabriquer des «sardines anchoitées» et satisfaire la demande de plus en plus croissante en ce type de poisson salé.

2.2 TECHNOLOGIE

La description et les recommandations techniques qui suivent sont la synthèse de diverses études relatives au salage du poisson en général et au salage de l'anchois en particulier. Il s'agit d'abord des codes d'usage du *Codex* d'intérêt pour le salage des anchois (Codex Alimentarius, 2003d). Ces codes ont été complétés et enrichis par des

publications scientifiques et techniques relatant divers travaux et études pertinents réalisés dans différents pays. Leurs rapports sont référencés à la fin du manuel pour permettre au lecteur d'en approfondir le contenu à loisir.

La technologie des semi-conserves d'anchois (figure 2.1) fait appel à l'action du sel seul sans intervention ni de traitement thermique ni d'adjonctions d'additifs en vue d'un effet stabilisateur pour la conservation. Le salage approprié de l'anchois conduit à une maturation caractéristique de la chair, le poisson est dit «*anchoité*». L'anchoitage est un processus complexe de réactions biochimiques qui dépendent de différents paramètres techniques (température, durée, pression, etc.) de la maturation.

Dans cette technologie, la qualité de la matière première et des ingrédients conditionne la réussite de l'anchoitage et, par conséquent, l'obtention d'un produit final aux caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques désirées. Le choix de la matière première est donc une étape primordiale.

2.2.1 Matière première et ingrédients

Il s'agit de l'anchois, du sel et autres éléments d'assaisonnement.

2.2.1.1 Anchois

Qualité de l'anchois matière première

Les caractéristiques morphologiques, de reproduction et de captures des espèces commerciales d'anchois ont été décrites au Chapitre 1.

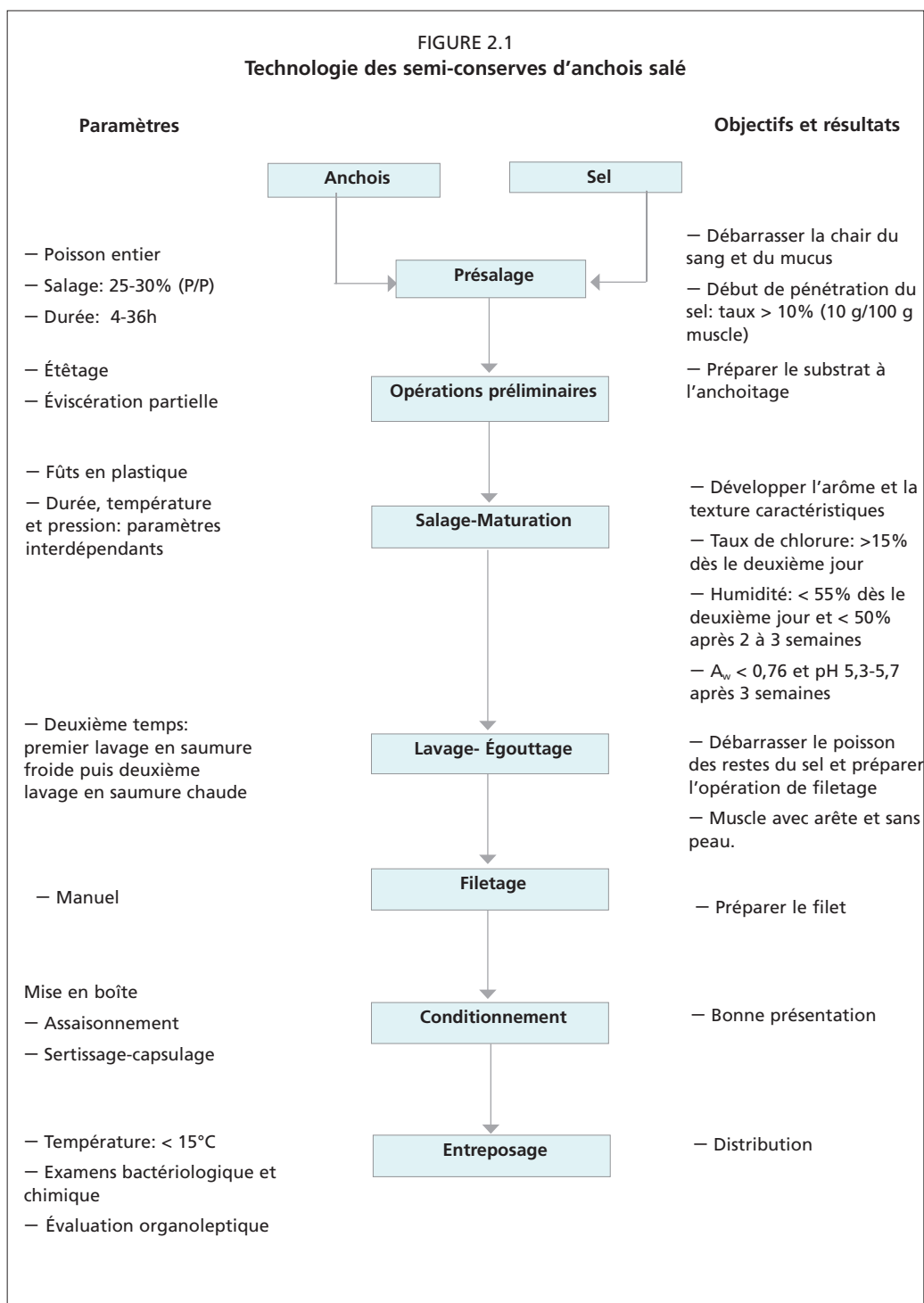
La qualité de la matière première est primordiale pour l'anchoitage. Celle-ci est influencée par la manutention à bord, au débarquement et pendant la préparation et le conditionnement. Ceci est d'autant plus vrai pour les poissons gras comme l'anchois en comparaison avec les poissons maigres (Zugarramurdi et Lupin, 1980).

Lors de la comparaison de trois techniques de manutention de l'anchois (*Engraulis anchoita*) à bord de senneurs, Zugarramurdi *et al.* (2004) ont conclu que le stockage de l'anchois à bord dans l'eau de mer refroidie à la glace était meilleure que le stockage en caisses avec de la glace, la pire méthode étant le stockage à bord en vrac dans la calle sans glaçage. Leur étude a révélé une corrélation linéaire entre la qualité de l'anchois matière première et celle du produit fini (anchois salé), avec une tangente plus élevée (courbe plus ascendante) pour les anchois en comparaison avec le lieu noir, indiquant qu'une variation de la qualité de l'anchois frais avait un effet plus marqué sur la qualité du produit fini salé que l'effet d'une variation similaire de la qualité du lieu noir frais sur son produit fini salé.

Non seulement la qualité du produit fini était affectée, mais le rendement et la productivité pendant l'anchoitage l'étaient également de façon significative. Ainsi, le rendement (*poids d'anchois frais pour produire une unité d'anchois salé*) diminuait de 10 à 15 pour cent suite à un retard de glaçage, de 7 pour cent suite à un retard de triage et de 25 pour cent si de l'anchois matière première de qualité marginale, au lieu d'anchois d'une bonne qualité, était utilisé.

Concernant la productivité pendant les opérations manuelles (*exprimé en kilos d'anchois travaillé/personne/heure*), elle augmentait de 30 pour cent quand l'anchois utilisé était de très bonne qualité au lieu d'une qualité moyenne.

Cet impact de la qualité de la matière première sur le rendement, la productivité et la qualité de l'anchois salé se répercutait sur les coûts de production, dont 75 pour cent étaient représentés par le coût de la matière première. En effet, Zugarramurdi *et al.* (2004) ont estimé que les coûts de production diminuaient de 27 pour cent lorsque de l'anchois de qualité moyenne, au lieu d'une bonne qualité, était utilisé.



Composition chimique de l'anchois

Le tableau 2.1 présente la composition chimique moyenne de deux espèces d'anchois et souligne la variation de cette composition d'une espèce à l'autre.

TABLEAU 2.1

Composition chimique du muscle de l'anchois (%)

	E. Japonicus	E. encrasicolus
Eau	73,4	78,4
Protéines	15,1	15,3
Lipides	6,3	3,5
Carbohydrates	0,4	1,6
Matière minérale	4,8	2,1

D'après Lee *et al.* (1989) et Fidanza *et al.* (1972)

Au sein d'une même espèce, il existe des variations en fonction de la saison et du cycle sexuel et trophique. Ce sont les lipides qui présentent les variations les plus marquées (Fidanza, Coli et Damiani, 1972). Ils sont formés de lipides neutres (77,6 pour cent), de phospholipides (22,1 pour cent) et de glycolipides (0,3 pour cent). Leur composition en acides gras fait ressortir leur richesse en acides gras polyinsaturés, particulièrement les acides C₂₀: 5 (acide eicosa-pentaénoïque) et C₂₂: 6 (acide docosa-héxaénoïque) qui peuvent représenter jusqu'à plus de la moitié des acides gras totaux (Cha, Lee et Kim, 1985; Zlatanov et Sagredos, 1993). Ces deux acides sont connus pour leur rôle bénéfique dans la prévention des affections cardiovasculaires en diminuant le risque d'infarctus, en rétablissant un rythme cardiaque normal et en ayant un effet positif sur l'hypertension artérielle (Horrocks et Yeo, 1999).

La fraction azotée est formée de trois types de protéines qui se distinguent par leur comportement dans une solution à concentration saline croissante (Soudan, 1965).

- Les protéines extra-cellulaires (encore appelées de stroma ou de soutien). Elles représentent 2 à 5 pour cent des protéines totales chez les téléostéens et sont solubles dans l'eau. Ces protéines sont formées essentiellement de collagène, secondairement d'élastine et de kératine.
- Les protéines sarcoplasmiques qui sont solubles dans l'eau et dans les solutions de faible force ionique. Elles représentent 20 à 30 pour cent des protéines totales et sont constituées de myoglobine, de globulines et par diverses enzymes.
- Les protéines myofibrillaires (ou protéines de structure) qui sont solubles dans les solutions de force ionique élevée, appelées pour cette raison protéines salinosolubles. Elles représentent 60 à 75 pour cent des protéines totales et sont formées de myosine, présente à des teneurs dépassant 50 pour cent des protéines totales, d'actine et de tropomyosine. La myosine présente la propriété, en plus de son caractère salinosoluble, d'être sensible aux enzymes protéolytiques et à la dessiccation. Ces caractéristiques suggèrent que cette protéine serait activement concernée par les phénomènes de salage.

Les acides aminés qui forment les protéines du muscle de l'anchois sont caractéristiques de l'espèce. Il y a prédominance des acides aspartique, glutamique, de l'histidine et de la taurine chez l'anchois du Pacifique, des acides aspartique, glutamique, de la leucine et de la lysine chez l'anchois européen (Cha, Lee et Kim, 1990; Lee *et al.*, 1989; Fidanza, Coli et Damiani, 1972).

Contrôle de la qualité de l'anchois à la réception

À la réception, le poisson fait l'objet d'un contrôle en vue de déceler les signes éventuels d'une altération organoleptique ou chimique tels que ceux qui ont été observés suite au suivi organoleptique de l'anchois au cours de son entreposage sous glace (Chaouqy et El Marrakchi, 2005). Il s'agit de la présence de tâche jaune sur l'opercule, de la perte de l'intégrité du péritoine, de l'affaissement de l'oeil et de la perte de l'adhérence de la

colonne vertébrale au muscle. Rappelons l'extrême fragilité de l'abdomen qui se traduit par son éclatement même sur des individus frais (Martinez et Gildberg, 1988).

L'appréciation chimique fait appel aux paramètres suivants:

- azote basique volatil total (ABVT),
- triméthylamine (TMA) et
- histamine.

Les valeurs limites correspondant au début d'altération sont, pour les paramètres ABVT et TMA, respectivement de 25 mg/100 g et 5 mg/100 g de muscle. Ces limites sont définies (Chaouqy et El Marrakchi, 2005), compte tenu des techniques d'analyses utilisées qui sont, pour l'ABVT, la méthode de distillation après extraction à l'acide perchlorique (méthode de référence de l'Union européenne) et, pour la TMA, la méthode colorimétrique de Dyer (Chaouqy et El Marrakchi, 2005). Quant à l'histamine, la limite d'acceptabilité proposée est de 5 mg/100 g de muscle.

2.2.1.2 Le sel

Le sel (chlorure de sodium) peut provenir soit de la mer soit des gisements terrestres (sel gemme). Un troisième type de sel est préparé par évaporation artificielle sous vide (Huss et Valdimarsson, 1990). Certains pays n'autorisent l'usage que du sel d'origine marine.

Quelle que soit son origine, le sel est constitué principalement de chlorure de sodium (99 pour cent) et des traces d'impuretés (1 pour cent) comprenant le chlorure de calcium et de magnésium, les sulfates de magnésium, de calcium et de sodium. Ces impuretés influencent de façon significative la réussite du salage du poisson. Seul le sulfate de calcium, pratiquement insoluble, n'a aucune action. Les autres sels de calcium et magnésium, même s'ils se trouvent en faible proportion, font diminuer considérablement la perméabilité des membranes cellulaires, notamment en colmatant la surface du muscle. Il s'ensuit que plus le sel est riche en ces impuretés, moins la pénétration du chlorure de sodium dans les tissus des poissons à saler sera rapide. À ce sujet, la FAO recommande que les sels de calcium et de magnésium ne devraient pas dépasser dans le sel 0,35 et 0,15 pour cent respectivement (Codex Alimentarius, 1979).

Un autre élément qui mérite d'être souligné, est la taille des cristaux de sels. Ainsi, pour l'anchoitage, c'est le sel demi-fin (2,5 mm de diamètre) qui est utilisé pour le saupoudrage de l'anchois. En effet, un sel plus fin diffuserait extrêmement rapidement dans le muscle provoquant une déshydratation excessive à la surface du muscle et conférant un aspect «brûlé» au produit anchoité. De plus, la coagulation subséquente des protéines contenues dans les couches superficielles compromet le salage en profondeur de la chair musculaire. D'un autre côté, un sel grossier endommagerait les fibres musculaires et affecterait l'intégrité des filets d'anchois en fin de maturation. C'est pour cela qu'il est surtout utilisé pour la préparation de la saumure.

Quelle que soit son utilisation, le sel doit être propre, sans mauvaise odeur, de couleur blanchâtre uniforme et de bonne qualité bactériologique, notamment une charge en flore anaérobie sulfite-réductrice aussi faible que possible. Il ne doit pas avoir été utilisé pour une quelconque autre fabrication. Autrement, il sera riche en matières organiques, en bactéries halophiles et en moisissures osmophiles indésirables car elles provoquent des défauts de fabrication (Huss et Valdimarsson, 1990). De plus, l'utilisation du sel neuf n'est pas seulement une nécessité technique mais parfois également réglementaire, comme en France.

Le sel fait aussi l'objet d'un contrôle visuel pour s'assurer de la propreté physique du produit et de l'absence de corps étrangers ou de mauvaises odeurs. Un contrôle analytique est également effectué pour vérifier la conformité par rapport aux normes bactériologiques qui sont généralement définies sous forme d'un cahier de charges.

2.2.1.3 Autres ingrédients

Il s'agit de l'huile de couverture et autres ingrédients (câpres, olives, cornichons, piment, vinaigre, etc.) qui entrent dans la composition du produit final afin de varier sa présentation en fonction de la demande des clients. Ces ingrédients doivent être de qualité alimentaire et répondre aux normes et exigences requises.

2.2.2 Opérations préliminaires

Elles consistent en un présalage suivi d'un étêtage-éviscération et, enfin, d'un lavage. Avant ces opérations, le poisson fait l'objet d'un tri en fonction de l'espèce pour éliminer les individus autres que l'anchois notamment la sardine, et de la taille, de façon à disposer d'individus homogènes pour permettre un salage-maturation synchrone. Étant donné que la plupart de ces opérations sont manuelles, le respect des bonnes pratiques hygiéniques et l'utilisation d'eau de qualité potable sont essentiels.

2.2.2.1 Présalage

Cette étape a pour objet de débarrasser le poisson de son mucus superficiel, du sang et du liquide de constitution exsudé. Elle se traduit par une pénétration du sel dans la chair et permet, par conséquent, de limiter la multiplication bactérienne; le tableau 2.2 décrit l'influence du sel sur la croissance des microorganismes (Huss et Valdimarsson, 1990). C'est pourquoi, sa réalisation doit être précoce et à température convenable sinon il y a dégradation du poisson avant que le sel n'atteigne une concentration critique dans le muscle.

Le présalage du poisson est effectué mécaniquement à l'aide d'une saleuse munie d'un tapis roulant, sur lequel, on mélange l'anchois et le sel au taux de 25 à 30 pour cent. Cette opération est parfois réalisée manuellement dans des bacs en plastique.

TABLEAU 2.2

Influence de la concentration en NaCl sur la croissance des microorganismes (d'après Huss et Valdimarsson, 1990).

Concentration en NaCl (%)	Croissance des micro-organismes	
	Germes pathogènes	Germes d'altération
3,5 – 10	<i>B.cereus</i>	Lactobacillaceae
	<i>C. botulinum</i>	Enterobacteriaceae
	<i>Salmonella</i>	Bacillaceae
	<i>C. perfringens</i>	Micrococcoceae
	<i>V. parahaemolyticus</i>	Moisissures
10 -17	<i>Staphylococcus</i>	Cocci
		Levures
		Moisissures
> 17	Moisissures toxigènes	Bactéries halophiles
		Levures
		Moisissures

Le mélange est ensuite transvasé dans des fûts en plastique contenant la saumure saturée. La durée du présalage varie de 4 à 36 heures en fonction des unités de fabrication et de la température ambiante.

2.2.2.2 Étêtage-éviscération

C'est une opération qui consiste à éliminer manuellement la tête et les branchies, le coeur et une partie des viscères.

L'éviscération pratiquée est partielle. Une éviscération totale avec lavage minutieux des poissons aboutit à une maturation incomplète sans apparition de la saveur caractéristique. Les viscères contiennent des enzymes qui participent à la maturation du muscle de l'anchois.

2.2.2.3 Lavage-égouttage

Le lavage complète les opérations précédentes en éliminant les débris des viscères encore adhérents, le sang et les fécès répandus sur la chair. Il s'effectue au moyen d'une saumure saturée fraîchement préparée. Le poisson lavé est mis à égoutter quelques minutes avant de subir l'opération de salage-maturation.

2.2.3 Salage-maturation

Le salage-maturation, autrement appelé «*anchoitage*», consiste en un traitement de la chair au sel et qui se traduit par des modifications organoleptiques, physico-chimiques et biologiques. Au terme de cette opération, le produit dit anchoité acquiert l'essentiel de ses caractéristiques typiques.

2.2.3.1 Technique

Le poisson est d'abord frotté avec du sel puis introduit dans des fûts dont le fond est tapissé d'une couche de sel. Les fûts sont remplis en alternant les couches de sel et de poisson; la dernière couche étant formée de sel. La quantité de sel utilisée doit assurer le salage complet. Elle varie de 15 à 20 pour cent en fonction des unités de fabrication.

Lorsque les barils sont pleins, le poisson est soumis à une pression physique, réalisée généralement à l'aide d'un disque en bois placé à l'extrémité supérieure du fût et sur lequel une charge est placée sous forme de blocs de ciment. Il y a lieu de signaler la tendance à la généralisation de l'utilisation, par les saleurs, de barils en plastique qui présentent l'avantage d'être commodes à manipuler et surtout d'être faciles à nettoyer et à désinfecter.

Durant toute la phase de maturation, la charge de la pression n'est pas constante et le poisson baigne complètement dans la saumure saturée qui est régulièrement renouvelée après avoir éliminé la matière grasse et l'exsudat formé en surface des fûts.

La durée de l'anchoitage peut varier de 2 à 12 mois en fonction essentiellement de la température et de la pression exercée sur les fûts et leurs contenus.

2.2.3.2 Facteurs de l'anchoitage

Les facteurs de l'anchoitage se classent en facteurs intrinsèques et en facteurs extrinsèques.

Les premiers sont inhérents au poisson, matière première et au sel, ingrédient principal. Le poisson intervient par sa composition qui varie en fonction de l'espèce et de la saison, particulièrement la graisse sous-cutanée, susceptible d'entraver la vitesse de pénétration du sel. La fraîcheur du poisson est un autre élément qui conditionne la bonne conduite de l'anchoitage. Les teneurs élevées en histamine dans les produits finis sont le plus souvent attribuées à une matière première altérée.

La nature et la composition du sel ont une grande influence sur la maturation de l'anchois. Ces aspects ont été traités au chapitre relatif au choix des ingrédients.

Les facteurs extrinsèques de la maturation concernent les conditions ambiantes de température, le pressage et la durée de maturation.

Température

La température influence les processus enzymatiques d'anchoitage. Les modifications biochimiques recherchées doivent être lentes et progressives pour mieux les maîtriser afin d'obtenir des caractéristiques organoleptiques optimales. Une température de 18 à 20 °C est la mieux indiquée et permet, généralement, d'obtenir un produit dit «anchoité» en trois mois. Une température élevée accélère les réactions biochimiques, particulièrement la protéolyse, et aboutit à un produit altéré (Pirazzoli *et al.*, 1981). Une température basse (entre 12 à 15 °C) aboutit à une maturation convenable mais, dans ces conditions, la durée de l'anchoitage est prolongée.

Pressage

Le pressage a pour effet d'augmenter la teneur en extrait sec, de favoriser l'exsudation de l'eau et donc de diminuer l'activité de l'eau (a_w) tout en favorisant la pénétration rapide du sel, ce qui permet de stabiliser le produit du point de vue microbiologique.

Des pressions élevées ralentissent la vitesse de maturation mais accélèrent la pénétration du sel. Cette dernière diminue l' a_w et inhibe la croissance bactérienne plus rapidement mais le produit ne présente pas les meilleures caractéristiques sensorielles. Une pression insuffisante favoriserait le développement des bactéries halophiles avec une activité protéolytique intense ce qui conduit à un produit surmaturé, voire altéré suite à une protéolyse excessive.

Durée de l'anchoitage

Ce facteur est étroitement lié à la température et au degré de pressage. En fait, les trois paramètres (température, pression et durée de maturation) sont tellement liés que la modification d'un paramètre entraîne *ipso facto* celle des autres paramètres. La définition d'un paramètre n'a de signification technologique que si les autres paramètres sont en même temps pris en considération. Dans la pratique, c'est plutôt le couple température-pression qui est initialement défini, il conditionne par la suite la durée de la maturation. Une revue des travaux consacrés à ce sujet permet justement de constater l'existence de plusieurs combinaisons température-pression-durée. L'utilisation judicieuse d'une combinaison devrait permettre d'atteindre un même objectif, celui de l'obtention des caractéristiques organoleptiques typiques du produit anchoité en une durée raisonnable.

Le recours à une pression de 40 g/cm², augmentée graduellement jusqu'à 100 g/cm² pendant toute la période de maturation de l'anchois (*E. anchoita*) en Uruguay, est rapporté par Mattos *et al.* (1976). La maturation est obtenue après huit mois à une température ambiante de 15 à 30 °C. En Argentine, Filsinger (1987) démontre, sur la même espèce, que la meilleure qualité du produit est obtenue avec une pression de 131,5 g/cm², à une température de 18-20 °C pendant 300 jours. Pour l'anchois européen (*E. encrasicolus*), Pirazzoli *et al.* (1981) rapportent qu'en Italie, l'utilisation d'une pression de 90 à 95 g/cm² permet d'obtenir un produit de bonne qualité organoleptique après 8 mois de maturation à 18 °C alors que Baldrati *et al.* (1977) suggéraient auparavant l'utilisation d'une pression de 140 g/cm² qui permet l'acquisition rapide par le muscle des paramètres physico-chimiques ($a_w < 0,75$ et extrait sec ≥ 50 pour cent) nécessaires pour une bonne conduite de l'anchoitage.

Une enquête menée auprès d'une dizaine d'unités de fabrication au Maroc (Sebti, 2001) révèle que les ateliers qui pratiquent la maturation à température ambiante (20 à 30 °C) recourent à une pression élevée de 100 à 120 g/cm² au début, puis cette pression est diminuée, dès le troisième jour de maturation à 50-60 g/cm² pour être ensuite maintenue à cette valeur jusqu'à la fin de la maturation qui dure 2 à 3 mois. Pour les unités qui disposent de locaux réfrigérés, la pression exercée au départ est, généralement, plus basse (60 g/cm²); elle est diminuée jusqu'à 40 g/cm² après le troisième jour. Dans ce cas, la maturation est nécessairement conduite à une température basse comprise entre 12 à 14 °C, ce qui se traduit par un allongement de la durée de maturation jusqu'à 9 mois, voire parfois un an.

S'il existe plusieurs combinaisons des paramètres de l'anchoitage, la tendance générale des professionnels est de privilégier une maturation de longue durée, d'au moins 8 mois, afin de mieux maîtriser les phénomènes physico-chimiques et biochimiques qui président à l'anchoitage et qui aboutissent, de façon lente et progressive, à l'acquisition des caractéristiques organoleptiques optimales du produit final. Pour cela, les sauteurs ont recours à une pression relativement élevée (supérieure à 90 g/cm²) ou une température basse (inférieure à 15 °C). Ces conditions de pression et de température ralentissent les processus enzymatiques de l'anchoitage, avec comme conséquence une

augmentation de la durée. Selon les professionnels, une maturation de longue durée aboutit à l'obtention d'un produit de très bonne qualité commerciale mais considèrent les longues périodes de maturation comme une contrainte économique parce qu'elles correspondent à une immobilisation des capitaux. Par contre, une maturation rapide à température élevée présente le risque de développement de bactéries indésirables, telles que les bactéries d'altération ou pathogènes.

2.2.3.3 Modifications subies au cours de l'anchoitage

La maturation est caractérisée par deux phénomènes. Le premier rapide et précoce, se traduit par une pénétration rapide du sel et une exsudation subséquente de l'eau tissulaire jusqu'à ce qu'un équilibre isotonique soit atteint. En même temps, une partie des graisses qui se forme à la surface avec la saumure est éliminée. Le deuxième phénomène est plus lent durant lequel des modifications lentes et progressives ont lieu et aboutissent à l'obtention d'un produit avec une consistance et un goût spécifiques.

Modifications macroscopiques

Les principales modifications macroscopiques ont été résumées par Campello (1985b). Elles portent sur:

- l'aspect de la peau et de son adhérence qui diminuent avec la maturation;
- l'aspect de la paroi abdominale qui peut être lysée lors de forte protéolyse (surmaturation);
- l'adhérence des filets à la colonne vertébrale qui diminue au cours de la maturation;
- l'odeur qui traduit l'arôme caractéristique du produit «anchoité»;
- la saveur qui se caractérise par la perte du goût «de poisson cru» remplacé par celui d'anchoité;
- la texture qui évolue d'un état ferme à un état moelleux;
- la couleur qui évolue d'un gris clair quand l'anchois est tout juste salé vers une teinte rose en fin de maturation.

Les premiers caractères qui apparaissent après un mois de salage concernent l'odeur, la saveur et la texture. La coloration typique est plus lente à se former (3 mois).

Modification physico-chimiques et biochimiques

L'évolution des caractéristiques physico-chimiques de l'anchois au cours de la maturation a fait l'objet de plusieurs travaux qui ont concerné plus d'une dizaine de lots de fabrication maturés à température ambiante (20 à 30 °C). Nous retenons l'étude de Azhari (1998), qui nous paraît plus complète et plus représentative des phénomènes compte tenu du nombre de paramètres analysés.

Les résultats qui représentent la moyenne de deux lots sont consignés au tableau 2.3.

Le pH musculaire, de 6,0 au début, chute à 5,4 après 3 à 4 mois de maturation. Cette baisse qui est attribuée essentiellement à l'accumulation d'acides gras libres, s'effectue malgré une augmentation significative en bases azotées notamment le NH_3 . De ce fait, il est très important de souligner qu'une augmentation du pH au début de la maturation signifierait une évolution anormale du poisson anchoité. Par conséquent, la mesure du pH constitue un bon moyen de vérifier l'évolution normale au cours de la maturation.

L'activité de l'eau (a_w) du muscle du poisson frais est de 0,99. À J_0 qui correspond au moment juste avant la mise en barils pour maturation, elle est de 0,81. Cette diminution importante s'explique par l'effet du présalage qui s'est traduit par une première pénétration du sel qui atteint une teneur supérieure à 1 pour cent (tableau 2.3). Après seulement 24 heures de maturation (J_1), l' a_w chute à des valeurs de 0,79 pour se stabiliser après trois mois à 0,76. Ces valeurs qui correspondent à celles déterminées par

TABLEAU 2.3

Évolution des paramètres physico-chimiques de l'anchois au cours de la maturation (d'après Azhari, 1998)

Paramètres analysés	Durée de maturation (jour)												
	J ₀	J ₁	J ₂	J ₃	J ₄	J ₅	J ₁₆	J ₂₆	J ₄₂	J ₅₇	J ₇₂	J ₈₇	J ₁₁₄
pH	6,0	5,64	5,62	5,6	5,57	5,55	5,53	5,49	5,47	5,44	5,42	5,4	5,39
Humidité (%)	75,15	55,79	52,29	51,45	50,85	50,79	49,8	49,02	48,83	48,27	48,14	48,04	48,01
a _w	0,81	0,79	0,77	0,77	0,77	0,80	0,83	0,80	0,78	0,77	0,76	0,76	0,76
NaCl (%)	1,09	15,19	16,20	16,51	17,0	17,12	17,24	17,35	17,47	17,54	17,69	17,59	16,89
ABVT (mgN/100 g)	17,0	18,08	19,44	21,35	22,8	24,18	24,95	25,96	28,14	29,73	30,49	32,09	37,25
TMA (mgN/100 g)	1,22	1,28	2,28	3,37	4,68	5,04	5,38	6,07	6,51	6,27	6,07	5,46	5,12
DMA (mgN/100 g)	0,20	0,27	0,32	0,34	0,38	0,45	0,55	0,47	0,70	0,80	0,88	0,94	1,02
NH ₃ (mgN/100 g)	14,89	15,43	15,86	16,92	17,06	17,49	17,83	18,30	19,94	20,68	22,13	23,8	29,75
Histamine (mgN/100 g)	0,98	1,71	1,56	1,3	1,44	1,61	1,65	1,72	2,81	2,96	4,11	4,67	5,45

plusieurs auteurs (Durand, 1982; Baldrati *et al.*, 1977; Pirazzoli *et al.*, 1981) permet de classer le poisson anchoité parmi les produits à humidité intermédiaire, c'est-à-dire les produits alimentaires dont l'a_w est comprise entre 0,6 et 0,8 (Cheftel et Cheftel, 1976).

Les teneurs en humidité de l'anchois frais avant le salage sont de 75 pour cent. Après 24 heures de maturation, elles chutent rapidement pour atteindre 55 pour cent. Après 2 à 3 semaines de maturation, l'humidité atteint une valeur constante avec 48 pour cent comme valeur moyenne. La teneur reste ensuite inférieure à 50 pour cent jusqu'à l'obtention du produit final.

Les teneurs en chlorures évoluent parallèlement à l'humidité. Sur l'anchois frais, elles sont de 0,15 pour cent (Chaouqy et El Marrakchi, 2005). Avant salage-maturation, elles atteignent 1 pour cent et s'expliquent, comme évoquées ci-dessus, par une première pénétration lors du présalage. Après 24 heures de maturation, elles augmentent pour atteindre des valeurs de l'ordre de 15 pour cent et, à la fin de la maturation, elles se stabilisent à des valeurs de 17 pour cent. Le suivi quotidien pendant les cinq premiers jours de maturation a permis de confirmer la pénétration rapide du sel comme le montre l'étude de la dynamique de pénétration du NaCl faite sur *Engraulis anchoita* par Zugarramurdi et Lupin (1976, 1977).

Les trois paramètres (pH, a_w et teneur en NaCl) qui sont par ailleurs interdépendants créent des conditions qui permettent une bonne protection contre un éventuel développement microbien de putréfaction à température ambiante pendant les premières étapes de la maturation.

Le potentiel rédox du poisson diminue au cours du salage, tout en demeurant positif. Le muscle peut par la suite atteindre des valeurs négatives rendant le milieu favorable à la multiplication des germes anaérobies stricts.

En tenant compte des résultats de plusieurs travaux, on peut dire qu'à la fin de la maturation et jusqu'au produit final, le muscle anchoité acquiert les caractéristiques physico-chimiques suivantes:

- pH = 5,3 - 5,7
- humidité < 50%
- a_w ≤ 0,76
- taux en NaCl > 15%

Ces caractéristiques sont importantes à connaître parce qu'elles sont utiles et nécessaires dans l'analyse des dangers sanitaires liés à la fabrication des semi-conserves d'anchois salés (voir Chapitre 3).

Modifications biochimiques

Ces modifications concernent principalement les fractions grasse et azotée.

Évolution de la fraction grasse:

Sous l'effet du pressage, une plus grande partie de la matière grasse exsude et est éliminée avec la saumure. La fraction qui reste dans le muscle subit une lipolyse lente et progressive qui se traduit par l'accumulation d'acides gras libres (AGL) dans le milieu. Le processus tend à se stabiliser en fin de maturation. Il est très important de souligner que l'essentiel des AGL sont produits au cours des trois premiers mois de maturation (Roldan, Barassi et Trucco, 1985).

La lipolyse s'accompagne de modifications dans la composition en acides gras libres du muscle: les acides gras saturés (C14:0, C16:0 et C18:0), augmentent légèrement, les acides monoinsaturés (C16:1, C18:1) ne changent pas beaucoup tandis que les acides polyènes (C20:5 et C22:6) diminuent au cours de la maturation (Pérez-Villarreal et Pozo, 1992).

L'abondance en acides gras polyinsaturés (AGPI), la lipolyse associée au salage (le chlorure de sodium est pro-oxydant), toutes ces conditions favorisent l'oxydation malgré un stockage en absence d'oxygène. Cependant, l'oxydation reste limitée. Une partie des produits d'oxydation (peroxydes et composés carbonylés) est éliminée avec la matière grasse exsudée ou dans la saumure, l'autre peut réagir avec les acides aminés ou les produits de décomposition des protéines, produisant ainsi des substances colorées et aromatiques.

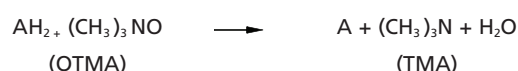
Évolution de la fraction azotée:

Au cours de la maturation, les protéines myofibrillaires (actine et myosine) qui sont majoritaires et possèdent un caractère salinosoluble, sont solubilisées. Les protéines sarcoplasmiques sont dénaturées. Ces transformations (solubilisation et dénaturation) associées à l'abaissement du pH, favorisent l'activité des protéases tissulaires (digestives et musculaires). Cette dernière se traduit par la production de substances non protéiques, dont une partie passe dans la saumure, et l'autre partie contribue à l'acquisition de la texture et de la saveur caractéristiques du produit anchoité. Répétons-le, ce phénomène est lent et un accroissement prématuré de la fraction azotée non protéique permet de prévoir une altération prochaine.

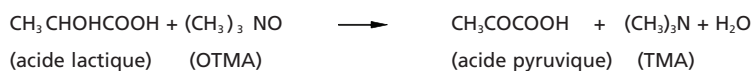
Les indices d'altération ont été étudiés au cours de la fabrication, particulièrement au cours de l'anchoitage (tableau 2.3).

L'ABVT (azote basique volatil total) comprend trois composants majeurs, la triméthylamine (TMA), la diméthylamine (DMA) et l'ammoniac.

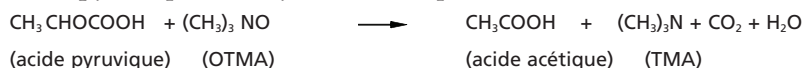
La (TMA), comme l'ABVT, est un paramètre utilisé comme indice d'altération des produits de la pêche. Cette amine est produite par réduction de l'OTMA (oxyde de triméthylamine) par voie bactérienne. L'enzyme responsable est une «triamine oxydase» appelée communément «OTMase». Selon Barrett et Kwan (1985), cette enzyme existe aussi bien chez les bactéries qui forment la flore naturelle d'origine marine que chez les entérobactéries. Parmi la flore naturelle, les genres ou espèces bactériens capables de réduire l'OTMA sont: *Vibrio* (particulièrement, *V. alginolyticus*), *Flavobacterium*, *Photobacterium*, *Phosphoreum* et *Shewanella putrefaciens* (anciennement *Alteromonas putrefaciens*). En ce qui concerne les entérobactéries, elles dégradent toutes l'OTMA à l'exception du genre *Erwinia* et certains espèces de *Shigella*. Toutes ces bactéries, qu'elles soient aérobies strictes ou aéro-anaérobies facultatives utilisent l'OTMA comme accepteur d'électrons dans la respiration anaérobie, selon l'équation générale (Ruiter, 1971):



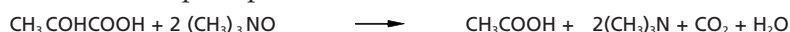
Cette réduction nécessite, en plus d'une «OTMase», une hydrogénase et un donneur d'hydrogène. L'acide lactique, rapidement produit dans le muscle en post-mortem par glycogénolyse en anaérobiose est le plus important donneur d'hydrogène, viennent ensuite le ribose, le pyruvate, le formate et le glucose. En présence d'acide lactique, la réaction s'écrit:



L'acide pyruvique est oxydé selon l'équation:

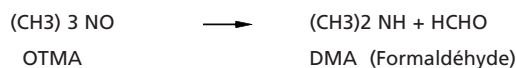


La réaction complète peut s'écrire comme suit:



Les propriétés de l'OTMase sont également précisées par Ruiter (1971). Le pH optimal de son activité est de 6,8 à 7,5, variable en fonction de l'espèce bactérienne alors que sa température optimale se situe autour de 35 °C. Aux températures de congélation, l'activité est nulle. La propriété la plus intéressante est le comportement de l'enzyme en présence de chlorure de sodium. L'OTMase bactérienne est complètement inhibée dès que la teneur en sel dépasse 10 pour cent (Nozawa, Ishida et Kadota, 1979; Fujii, 1977). Le NaCl possède une double action: inhibition de l'activité et répression de la synthèse de l'enzyme (Ruiter, 1971); cette dernière étant induite en présence du substrat OTMA.

La DMA, autre amine volatile formant l'ABVT, est produite à partir de l'OTMA par une enzyme tissulaire appelée déméthylase selon l'équation:



L'enzyme déméthylase n'existe que chez un nombre limité d'animaux marins. Chez les poissons, la plus grande activité est reconnue chez les Gadidés, particulièrement au niveau de leurs viscères, rein et rate. Elle possède une activité optimale à des températures comprises entre 30 à 40 °C mais le fait remarquable est que l'activité est encore possible aux températures négatives mais plus importante à -8°C qu'aux températures de -20 °C. Les conséquences de cette dégradation sont essentiellement d'ordre organoleptique. Le formaldéhyde (FA) autre métabolite produit en même temps que la DMA provoque une dénaturation des protéines, ce qui se traduit par des modifications de la texture du muscle qui devient plus dur. L'anchois n'est pas concerné par cette dégradation du moment qu'il ne possède pas l'enzyme déméthylase.

Signalons que la TMA au même titre que la DMA peuvent également être produites par dégradation chimique de l'OTMA, réaction qui est favorisée par l'élévation de la température (Tokunaga, 1975; Yeannes, Del Valle et Lupin, 1983; Gallardo *et al.*, 1990).

L'ABVT voit sa teneur passer de 17 mg/100 g de muscle avant salage, à 37 mg/100 g après 114 jours de maturation. Sur l'anchois argentin (*E. anchoita*), l'augmentation des bases azotées est fonction de la durée de maturation: après 4 et 8 mois, les teneurs enregistrées sont respectivement de 46 et de 115 mg N/100 g de muscle (Mattos *et al.*, 1976). Une étude menée au Maroc (Ouahri, 1992) sur 111 prélèvements provenant de 6 unités de fabrication qui pratiquent la maturation en trois mois, donne des résultats du même ordre (37,2 mg/100 g en moyenne).

La progression de l'ABVT au cours de l'anchoitage est due principalement à l'accumulation de l'ammoniac (NH₃), quoique la TMA et la DMA y contribuent également. La teneur en TMA passe de 1,22 mg N/100 g à J₀ à 5,12 mg N/100 g après

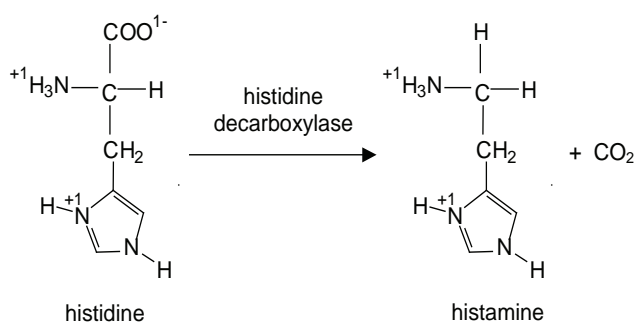
114 jours (tableau 2.3); elle peut atteindre 12,5 mg/100 g après 8 mois de maturation à température ambiante (Mattos *et al.*, 1976). Cette production lente et progressive de la TMA ne peut pas être attribuée à l'action de l'OTMase bactérienne qui réduit l'OTMA en TMA, du moment que cette enzyme est complètement inhibée en présence de 15 pour cent de NaCl. Le suivi de l'OTMA au cours de la maturation montre que ce substrat précurseur de la TMA voit sa teneur décroître de 28,45 mg N/100 g au début à 22,48 mg N/100 g après 2 mois de maturation à température ambiante (Jabri, 1996). Cette baisse ne peut donc être attribuée qu'à une dégradation du substrat par voie chimique. Cette dernière explique également la faible accumulation de la DMA dont la teneur passe de 0,20 mg N/100 g à J₀ à 1,02 mg N/100 g après 114 jours de maturation (tableau 2.3).

La teneur moyenne en NH₃ dans le muscle de l'anchois avant salage est de 14,89 mg N/100 g. Elle augmente progressivement pour atteindre une valeur de 29,75 mg N/100 g, contribuant ainsi à l'augmentation de l'ABVT, comme principal composant. Cette nette progression ne peut s'expliquer par l'action des désaminases bactériennes, inactives dans les conditions physico-chimiques d'a_w et de concentration saline qui règnent dans le muscle pendant la maturation mais plutôt par l'intervention d'enzymes digestives.

Une telle évolution de l'ABVT rend ce paramètre inadéquat pour apprécier l'altération de l'anchois mûré, mais sa mesure peut renseigner sur l'évolution de la maturation (Filsinger, Sisti et Bergamaschi, 1984).

Un autre composé azoté qui peut se former pendant l'anchoitage est l'histamine, une amine produite par décarboxylation de l'histidine. Elle a toujours suscité l'intérêt des professionnels de la pêche et des hygiénistes en raison de sa toxicité pour l'homme lorsqu'elle s'accumule à des teneurs anormalement élevées dans le muscle de poisson.

L'histamine se forme par décarboxylation enzymatique de l'histidine. Cette réaction est catalysée par une enzyme, l'histidine-décarboxylase, d'origine bactérienne.



Il est actuellement admis que seule l'histidine libre peut être décarboxylée en histamine (Ferencik, 1970). L'histidine-décarboxylase, enzyme responsable de cette action, est hautement spécifique. L'acétylation de l'histidine et de la liaison peptidique aussi bien avec le radical COOH qu'avec le radical NH₂, empêche la décarboxylation bactérienne (Arnold et Brown, 1978). Comme corollaire, seuls les poissons dont la chair est riche en histidine libre, tels que ceux appartenant à la famille des Scombridés (maquereau et thon), des Clupéidés (sardine) et des Engraulidés (anchois) seront concernés par la formation d'histamine dans la chair.

Les principales bactéries productrices d'histamine dans le muscle de diverses espèces de poisson ont été étudiées par plusieurs auteurs. Les résultats de leurs travaux sont synthétisés dans le tableau 2.4.

Généralement, seules quelques bactéries entériques telles que *Morganella morganii*, *Raoultella planticola* (anciennement *Klebsiella pneumoniae*) et *Hafnia alvei* ont été fréquemment isolées du poisson impliqué dans les incidents d'intoxication histaminique malgré le fait que l'enzyme histidine-décarboxylase est largement distribuée chez les

entérobactéries. Parmi ces dernières, *M. morganii* est reconnue comme la bactérie la plus histaminoformatrice. Ce groupe microbien qui fait partie de la flore normale du tube digestif des humains et des animaux se multiplie aux températures moyennes de 30 °C (caractère mésophile). On devrait donc s'attendre à ce que le respect des règles d'hygiène au niveau de tous les segments de la filière pêche et de la réfrigération bien conduite (glaçage précoce et continu, ratio glace-poisson convenable, etc.) soit des moyens appropriés pour la maîtrise du danger. Cependant, des souches psychrotrophes d'entérobactéries sont capables de produire l'histamine même à basse température (Huss, Ababouch et Gram, 2004). Ainsi, *Photobacterium phosphoreum* et *Morganella psychrotolerans* suscitent beaucoup d'intérêt parce qu'elles peuvent produire de l'histamine en quantité importante à basse température (0-5 °C). (Kanki *et al.*, 2004; Dalgaard *et al.*, 2007).

TABLEAU 2.4

Bactéries productrices d'histamine dans le muscle du poisson

Bactérie	Source	Références
<i>Morganella morganii</i>	Thon toxique	Frank, 1985; Taylor <i>et al.</i> , 1978
	Sardine altérée	El Marrakchi <i>et al.</i> , 1992 Ababouch <i>et al.</i> , 1992
	Anchois altéré	Chaouqy et El Marrakchi, 2005
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (<i>Raoultella planticola</i>)	Thon toxique	Taylor <i>et al.</i> , 1978
<i>Hafnia alvei</i>	Thon toxique	Frank, 1985
<i>Citrobacter freundii</i>	Thon	Frank, 1985
<i>Enterobacter cloacae</i>	Thon	Frank, 1985
<i>Vibrio</i> sp.	Maquereau	Frank, 1985
<i>Vibrio alginolyticus</i>	Thon altéré	Yoshinaga et Frank, 1982
<i>Photobacterium phosphoreum</i>	Sardine séchée	Kanki <i>et al.</i> , 2004
<i>Pediococcus halophilus</i>	Anchois salé	Karnop, 1988
<i>Clostridium perfringens</i>	Thon altéré	Yoshinaga et Frank, 1982
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Anchois altéré	Chaouqy et El Marrakchi, 2005
<i>Morganella psychrotolerans</i> et/ou <i>Photobacterium phosphoreum</i>	Thon en sauce chili	Emborg, Laursen et Dalgaard, 2005
<i>Morganella psychrotolerans</i>	Thon fumé à froid	Dalgaard, 2006

Bien que l'identité de *Photobacterium phosphoreum* n'ait été définitivement établie que ces dernières années, cette bactérie aurait été isolée pour la première fois en 1981 par des auteurs japonais (Okuzumi, Okuda et Awano, 1981 et 1982) qui utilisèrent l'appellation «bactérie du groupe N» en raison des difficultés pour leur identification. Ce n'est que plus tard que ce groupe a été identifié comme *Photobacterium phosphoreum* par Fujii *et al.* (1997).

Cette bactérie présente la double caractéristique d'être à la fois psychrotrophe (croît à +35 °C) et halophile modérée (une concentration de 2 pour cent en NaCl est nécessaire pour sa croissance). Kanki *et al.* (2004) signalent que malgré sa capacité à produire l'histamine en grande quantité, son implication dans les intoxications histaminiques n'a été que rarement rapportée (un cas au Japon suite à la consommation de sardine séchée contenant 300 mg d'histamine/100 g).

Karnop (1988) a mis en évidence le rôle de *Pediococcus halophilus* dans la production de l'histamine. Cette espèce est capable de décarboxyler l'histidine même à une concentration de 20 pour cent en sel dans le muscle de l'anchois. Son caractère strictement mésophile explique que la production d'histamine n'est appréciable que lors d'un entroposage à température ambiante (20 °C).

Une étude récente de la microflore des semi-conserves d'anchois retirées du marché car riches en histamine, a permis d'isoler, mais seulement après enrichissement, des bactéries du groupe *Bacillus* spp. et du groupe *Staphylococcus* spp. Toutefois, ces bactéries ont produit peu d'histamine en milieu de culture, indiquant qu'elles n'étaient

pas responsables de la production d'histamine qui a conduit au retrait des semi-conserves du marché (Kim *et al.*, 2004)

Signalons que certains *Pseudomonas psychrotrophes* tels *P. aeruginosa*, agents d'altération du poisson sous glace, peuvent produire l'histamine mais à des taux relativement faibles (Ryser, Marth et Taylor, 1984)

Le suivi de l'histamine au cours de l'anchoitage (tableau 2.3) montre que cette amine s'accumule faiblement puisque les valeurs enregistrées en fin de maturation dépassent rarement des teneurs de 5 mg/100 g. Ces données concernent des lots d'anchois maturés à température ambiante (20-22 °C) pendant une durée maximale de 3 mois. Lorsque, pour des raisons commerciales, la maturation doit être menée sur une plus longue durée, il est impératif de conduire l'anchoitage à une température ≤ 20 °C ou de préférence ≤ 15 °C pour éviter l'accumulation de l'histamine jusqu'à des taux inacceptables. En effet, à température moyenne (22-25 °C), il y a sélection au bout de 3 mois de maturation, de bactéries halophiles parmi lesquelles domine *Pediococcus halophilus* (Pérez-Villarreal et Pozo, 1992). Cette dernière bactérie est capable de produire l'histamine même à des teneurs en sel supérieures à 20 pour cent (Karnop, 1988).

Changements microbiologiques au cours de l'anchoitage

L'évolution microbiologique au cours de l'anchoitage dépend aussi bien des conditions techniques de l'anchoitage (température, pression et durée) qui permettent l'acquisition rapide (en 2 à 3 jours) des caractéristiques physico-chimiques du muscle (salinité, pH et a_w), que de la nature de la flore présente initialement. Cette dernière est apportée essentiellement par le poisson et le sel. Les conditions hygiéniques de manutention, de débarquement et de préparation de l'anchois avant sa maturation, peuvent constituer des apports secondaires. Ainsi, les bactéries isolées au cours du processus de l'anchoitage ont deux origines: des bactéries marines introduites par le poisson et le sel et des bactéries non marines amenées par les manipulations et le matériel (Campello, 1985b).

Origine de la microflore:

La microflore au début de l'anchoitage provient principalement du poisson lui-même. Il est actuellement admis que la nature de la flore initiale du poisson qui est localisée au niveau de la peau, des branchies et du tube digestif, dépend de façon étroite du lieu de capture et de l'alimentation (Shewan, 1971; Shewan et Murray, 1979; Gennari et Tomaselli, 1988).

Les études effectuées sur les petits pélagiques de l'Atlantique marocain, notamment sur l'anchois montrent d'une façon générale que la flore initiale est dominée par des bactéries à Gram négatif (Chaouqy, El Marrakchi et Zekhnini, 2005). Cependant, la distribution en genres et espèces dépend de la nature de la flore dénombrée, notamment des modalités de culture (nature du milieu utilisé et conditions d'incubation). Ainsi, la flore mésophile aérobie totale est formée de *Shewanella putrefaciens*, *Vibrio* et *Pseudomonas* alors que la flore halophile modérée de *Vibrio*, *Staphylococcus* et de *Moraxella-Acinetobacter*.

Le sel, principal ingrédient dans le salage de l'anchois, n'est pas stérile. Les microorganismes apportés par le sel varient quantitativement et qualitativement en fonction essentiellement de l'origine du sel. Ainsi, le sel solaire (obtenu par évaporation de l'eau de mer) contient dix fois plus de microorganismes que le sel gemme. Les dénombrements effectués sur milieu de culture banal révèlent des charges bactériennes de l'ordre de 10^2 à 10^3 colonies/g de sel (Huss et Valdimarsson, 1990).

D'un point de vue qualitatif, la flore du sel solaire est représentée essentiellement par les halophiles stricts tels que les Halobacteriaceae, suivis par les halotolérants formés principalement par les Bacillus (75 pour cent), le reste étant constitué par les genres Micrococcus et Sarcina. La microflore du sel gemme est principalement représentée

par des bactéries halotolérantes formées par les microcoques (70 pour cent), les corynébactéries (20 pour cent) et les *Bacillus* (4 pour cent) (Bensalma, 1996).

Aussi bien pour le poisson que pour le sel, une flore secondaire dite de contamination dont l'importance et la nature dépend des conditions d'obtention et de préparation des divers ingrédients, peut constituer un apport supplémentaire. Cette flore est généralement indésirable, surtout celle témoin de souillures d'origine fécale, c'est pourquoi son apport doit être réduit à un niveau acceptable par une maîtrise reposant sur le strict respect des règles d'hygiène.

Évolution de la flore microbienne:

Le suivi microbiologique au cours de l'anchoitage se heurte au choix du type de flore à dénombrer et à identifier du moment que la salinité du milieu culturel et les conditions d'incubation (température et durée) conditionnent les résultats microbiologiques (Campello, 1985a et 1985b). À titre d'exemple, les travaux effectués sur l'anchois capturé dans l'Atlantique marocain ont opté pour les flores suivantes (Akel, 1993; Bensalma, 1996; Azhari, 1998):

- Flore halophile modérée (FHM): elle regroupe tous les microorganismes capables de se multiplier dans un milieu gélosé simple préparé à l'eau de mer (au lieu de l'eau distillée). L'incubation est menée à 25 °C pendant 5 jours. Le dénombrement de cette flore qui comprend les halophiles modérés et les halotolérants, a pour objet de suivre l'évolution de la flore d'origine marine (la concentration en sel étant de 3,5 pour cent environ).
- Flore halophile (FH): elle concerne les microorganismes capables de se multiplier dans un milieu gélosé à 15 pour cent de chlorure de sodium. Le choix de cette concentration se justifie par la nécessité de créer des conditions de salinité qui règnent dans le muscle au cours de l'anchoitage (15 à 17 pour cent de NaCl).
- Flore mésophile aérobie totale (FMAT): elle est formée par les microorganismes qui cultivent à 30 °C pendant trois jours sur milieu gélosé pour numération.
- Flore productrice d'hydrogène sulfuré (FPHS): elle permet le suivi de la flore potentiellement protéolytique par le dénombrement des colonies noirâtres (production d'H₂S) sur le milieu de Gram, Trolle et Huss (1987).

Les résultats de l'évolution bactériologique montrent des variations quantitatives et qualitatives au cours de la maturation en fonction de la nature de la flore analysée.

D'un point de vue quantitatif, la FMAT diminue régulièrement au cours de la maturation. La population initiale moyenne qui est de l'ordre de $2 \text{ à } 3 \cdot 10^4$ UFC/g, de muscle, atteint des charges bactériennes de moins de $10 \text{ à } 6 \cdot 10^2$ UFC/g, variables en fonction des lots analysés (Akel, 1993; Bensalma, 1996). En ce qui concerne la FHM et la FH, il y a une augmentation qui est beaucoup plus nette après deux mois de maturation, suivie d'une diminution jusqu'à atteindre des charges moyennes de l'ordre de moins de $10 \text{ à } 9 \cdot 10^1$ UFC/g pour la FHM (Akel, 1993) et de $7,7 \cdot 10^2 \text{ à } 5,5 \cdot 10^3$ UFC/g pour la FH (Bensalma, 1996). Une telle évolution s'explique par l'action du sel dont la teneur supérieure à 15 pour cent est rapidement atteinte dans le muscle (1 à 2 jours après salage), qui acquiert des valeurs d' a_w inférieures à 0,77. La dynamique rapide de pénétration du sel est rendue possible grâce à l'application d'une pression suffisamment élevée ($> 90 \text{ g/cm}^2$) au début de la maturation. À la fin de l'anchoitage, la densité microbienne peut être considérée comme faible du moment que les dénombrements révèlent des charges bactériennes de moins de 10 UFC/g de muscle à $5,5 \cdot 10^3 \text{ UFC/g}$, variables en fonction de la nature de la flore dénombrée.

Qualitativement, la flore initiale qui est formée principalement de bactéries à Gram négatif, mésophiles, psychrotrophes et protéolytiques est inhibée et, au bout de trois mois de maturation à température ambiante, elle est supplantée par des bactéries à Gram positif avec prédominance des coques parmi la FMAT et la FHM, et présence quasi-exclusive des formes bacillaires parmi la FH. Au sein de la population des

coques, l'espèce *Pediococcus halophilus* prédomine nettement (Karnop, 1988). Cette dernière espèce se caractérise par sa capacité à produire l'histamine à des taux élevés, aux concentrations en sel de 15 pour cent qui sont généralement rencontrées dans les anchois salés. Une autre propriété singularise cette espèce est son caractère strictement mésophile: elle est inhibée dès que la température est inférieure à 15 °C. Lorsque la maturation est conduite aux températures de 20-22 °C, avec un pressage appropriée, cette bactérie devient prédominante après le troisième mois. Ces données expliquent la nécessité de conduire la maturation à basse température (<15 °C) lorsque la durée doit être prolongée au delà de trois mois. De même, l'entreposage des produits finis doit être effectué à une température basse (de l'ordre de 10 °C).

Cette évolution s'explique par la sélection, au cours de la maturation, de microorganismes plus ou moins adaptés au chlorure de sodium (Campello, 1985a). Dans une autre étude sur la maturation de l'anchois, Pérez-Villarreal et Pozo (1992) constatent que les halobactéries apparaissent au bout de 30 jours de maturation puis les dénombrements se stabilisent au bout de deux mois. Au sein de groupe, le genre *Halobacterium* prédomine, suivi par les Micrococcaceae et *Pediococcus halophilus*. Par ailleurs, l'appréciation des propriétés enzymatiques de 56 isolats provenant de la FMA et de la FHM, dénombrées au cours de la maturation de l'anchois révèlent qu'aucune souche ne dégrade l'OTMA, seulement 2 souches (soit 3,5 pour cent) dégradent les protéines du muscle de l'anchois et 4 souches (soit 7 pour cent) sont faiblement histidinolytiques (Akel, 1993).

Le suivi de la flore protéolytique au cours de l'anchoitage, réalisé à travers le dénombrement de la flore productrice d'H₂S à partir du milieu gélose-fer (Gram, Trolle et Huss, 1987), montre une diminution nette et rapide de cette flore (Azhari, 1998) voire son absence tout au long du processus de maturation (Akel, 1993).

La faible densité microbienne constatée tout au long de l'étape de maturation et sur le produit fini, l'absence de flore productrice d'H₂S, le faible potentiel enzymatique notamment protéolytique des isolats testés, tout ceci amène à minimiser le rôle des bactéries dans la maturation de l'anchois et conforte l'hypothèse que l'anchoitage est un processus enzymatique mettant en oeuvre les protéases d'origine digestive.

2.2.3.4 Appréciation de l'anchoitage

L'une des préoccupations majeures des professionnels, c'est de pouvoir apprécier la fin de l'anchoitage c'est à dire le moment où la chair de l'anchois acquiert les caractéristiques organoleptiques recherchées. La plupart des industriels procèdent à une appréciation organoleptique de façon empirique, établie sur leurs propres expériences professionnelles. Cependant, une grille de notation chiffrée basée sur différents caractères organoleptiques a été proposée. De plus, des efforts sont actuellement focalisés sur la détermination d'indices analytiques.

Appréciation organoleptique

L'évaluation organoleptique de l'anchoitage est encore effectuée, de façon empirique, par les professionnels, se basant sur des critères simples comme «anchoité», «suranchoité» ou «sous-anchoité». Filsinger *et al.* (1982), en s'aidant de l'expérience des professionnels ont pu mettre au point une grille de notation permettant d'évaluer le moment où le produit est «anchoité». Cinq facteurs ont été pris en considération pour l'établissement de la grille (tableau 2.5). Il s'agit de la flaveur, de l'odeur, de la couleur et consistance du muscle et, enfin, de l'adhérence de la chair à la colonne vertébrale. Chaque facteur ou paramètre est évalué individuellement et noté de 0 à 8. La moyenne des cinq paramètres est considérée comme la note finale. La note 8 correspond à l'anchois détérioré ou surmaturé, la note 0 au produit frais avant maturation. Le point de maturation (qui correspond au produit possédant les caractéristiques organoleptiques optimales) correspond à la note 6. Grâce à cette grille de notation, le suivi au cours

de la maturation a permis aux auteurs (Filsinger *et al.*, 1982) de relever que l'essentiel des paramètres sensoriels qui caractérisent la maturation prennent place en moins de cent jours, cependant la maturation complète n'est obtenue qu'après dix mois.

Parce que des essais d'application de cette grille se sont avérés insatisfaisants et, après concertation avec les professionnels, Filsinger, Sisti et Bergamaschi (1987) proposèrent une autre grille de notation faisant appel à d'autres descriptions organoleptiques, avec les mêmes paramètres, pour l'appréciation du produit maturé (tableau 2.6). Dans cette deuxième grille dont la notation va de 0 à 100, la meilleure qualité a une note ≥ 86 , une qualité très bonne de 66 à 85, une bonne qualité de 46 à 65, une qualité régulière de 26 à 45 et enfin, le produit avec une note ≤ 26 correspond à l'anchois altéré ou surmaturé.

TABLEAU 2.5

Évaluation organoleptique de l'anchois maturé (Filsinger *et al.*, 1982)

Facteur	Notation				
	0	2	4	6	8
Flaveur (négliger le goût salé)	poisson cru	neutre	ressemble légèrement au jambon	- goût de jambon, - viande cuite	- rance - mauvais goût
Couleur de la chair	naturelle du poisson frais	naturelle aux bords, rouge foncé à l'intérieur, rose au milieu	rose clair, rouge foncé ou rose à l'intérieur	couleur rose uniforme	rouge sombre, noire, tâches rouges et/ou points noirs
Odeur	chair fraîche	Neutre (odeur de saumure)	Odeur agréable des esters volatils	odeur agréable, caractéristique du produit anchoité	rance, acide, ammoniacale ou sulfurée.
Consistance de la chair	élasticité élevée, humide	moins élastique, moins humide	légère élasticité, plus compacte, pas de sensation humide	plus d'élasticité ferme et résistante à la pression du doigt	fragile, peu résistante
Adhérence de la chair à la colonne vertébrale	très adhérente, ne se sépare pas	très adhérente, ne se sépare pas facilement	adhérente, se sépare (filetage incomplet)	très peu d'adhérence filetage adéquat	la chair se déchire au moment du filetage

Il existe une différence fondamentale entre les deux grilles de notation. La première grille définit le point de maturation (notation 6) qui est par ailleurs proche du point 8, note correspondant à une surmaturation voire une altération; cette grille présente une description des caractères organoleptiques obtenus progressivement au cours de la maturation. La deuxième grille permet d'établir différentes classes de qualité du produit maturé, c'est pourquoi la notation régulièrement décroissante évolue d'une meilleure qualité (note ≥ 86) à une mauvaise qualité (note ≤ 26).

Cette grille de notation, reproduite au tableau 2.6, constitue la première référence servant à une évaluation organoleptique objective des anchois en semi-conserves. Elle a été utilisée par plusieurs spécialistes de l'anchois salé (Zugarramurdi *et al.*, 2004).

Indices chimiques de maturation

L'appréciation organoleptique reste une méthode pratique et rapide pour évaluer le degré de maturation des semi-conserves d'anchois. Cependant, elle souffre de son caractère, quelque peu subjectif. C'est pourquoi, les spécialistes ont essayé de définir des paramètres analytiques et objectifs pour apprécier l'anchoitage. Ces paramètres, qui sont des métabolites produits pendant la maturation, devraient présenter une bonne corrélation avec les caractéristiques organoleptiques de l'anchoitage.

TABLEAU 2.6

Évaluation organoleptique de l'anchois mûré (Filsinger *et al.*, 1987)

Facteur	Notation				
	100	80	60	40	20
Flaveur	rappelle celle de la viande fortement salée	ressemble à celle du jambon	ressemble à celle du jambon, du fromage doux	ressemble légèrement au jambon, très légère rancidité	rance, mauvais goûts
Couleur de la chair	couleur rose uniforme	rosâtre, rouge ou rose à l'intérieur	rouge sombre, rosâtre, rouge ou rose à l'intérieur	rose irrégulière, rouge foncé à l'intérieur présence de tâches rouges sombres	rouge foncé, tâches rouge-noir et/ou points noirs
Odeur	<ul style="list-style-type: none"> plaisante d'esters volatils odeur forte caractéristique de l'anchois 	plaisante d'esters volatils	esters volatils	esters volatils, légèrement rances	mauvaises odeurs de rance, acide, ammoniacale et/ou sulfurée
Consistance de la chair	pas d'élasticité, chair ferme et résistante à la pression du doigt	ferme et résistante	légèrement élastique, humide	élastique, humide	friable
Adhérence de la chair à la colonne vertébrale	filets se séparent complètement	légère adhérence, filetage facile	adhérence, filetage incomplet	adhérence, séparation pas facile	filet se déchire au filetage

Le tableau 2.7 résume les résultats des différentes études relatives aux indices chimiques d'appréciation de la maturation.

Les modifications biochimiques du muscle de l'anchois concernent surtout les fractions grasse et azotée. Elles ont été décrites précédemment dans ce chapitre. L'évolution des composés lipidiques a permis de définir deux paramètres chimiques de maturation de l'anchois salé, à savoir l'indice des esters totaux et l'indice des acides gras libres (AGL).

TABLEAU 2.7

Indices chimiques d'appréciation de la maturation des anchois salés

Indice chimique	Valeur indicative	Commentaire	Références
Esters totaux	9 g KOH/100 g de matière sèche désalée	• permet d'estimer les stades tardifs de la maturation	Filsinger, Sisti et Bergamaschi, 1987
Acides gras libres (AGL)	15 mEq d'AGL/par 100 g de muscle	• permet d'estimer les stades précoces de la maturation	Roldan, Barassi et Trucco, 1985
AAL/AAT*	20%	<ul style="list-style-type: none"> approprié pour apprécier la maturation rapport atteint avant maturation complète 	Baldrati <i>et al.</i> , 1975 Durand, 1982
NNP/AT*	33%	• rapport correspondant à l'obtention d'une bonne maturation organoleptique	Mattos <i>et al.</i> 1976; Durand, 1982; Campello, 1985b
	40%	• rapport correspondant à l'atteinte du point de maturation	Pérez-Villarreal et Pozo, 1992

* AAL/AAT = Acides aminés libres/acides aminés totaux; NNP/AT = Azote non protéique/azote total

Les esters sont formés par réaction d'estérification entre les alcools et les acides gras libres provenant de la décomposition des lipides. Selon Filsinger *et al.* (1982), il existe une corrélation étroite entre l'indice des esters totaux et l'évolution organoleptique durant la période entre 100 et 328 jours de maturation de l'anchois argentin. Cet indice serait donc approprié pour estimer les stades tardifs de la maturation lorsqu'elle se déroule sur une longue période. Selon les mêmes auteurs, un indice de 9 g de KOH/100 g de matière sèche déssalée indique une bonne progression de la maturation. Cependant, il ne permet pas de prédire la qualité des produits maturés (Filsinger *et al.*, 1987).

Le suivi de la lipolyse au cours de la maturation a été étudié par Roldan, Barassi et Trucco (1985) du moment que les AGL possèdent une forte influence sur la flaveur du poisson salé et maturé. Ils ont remarqué une production régulière de ces acides au cours de la maturation avec plus de 65 pour cent de cette augmentation qui survient pendant les premiers 100 jours. La corrélation élevée qui existe avec l'évaluation organoleptique a conduit ces auteurs à retenir le dosage des AGL comme indice objectif pour apprécier les stades précoces de la maturation. Ils proposent la valeur de 15 mEq d'AGL/100 g de muscle comme limite correspondant à une maturation optimale.

En ce qui concerne l'évolution des composés azotés, d'autres indices ont été définis. Le premier indice retenu est relatif au rapport acides aminés libres sur acides aminés totaux (AAL/AAT), proposé par Baldrati *et al.* (1975). Selon ces auteurs, un rapport de 20 pour cent peut être retenu comme critère de maturation. Cependant, Durand (1982), en se basant sur les critères organoleptiques définis par Filsinger *et al.* (1982), démontre que ce rapport est atteint à la neuvième semaine alors que l'anchoitage n'est pas encore terminé en particulier la texture et la couleur ne sont pas pleinement satisfaisantes.

En 1976, Mattos *et al.* ont proposé un autre indice correspondant au rapport azote non protéique sur azote total (NNP/AT). Lorsque ce rapport atteint 33 pour cent, la maturation peut être considérée comme complète. Plus tard, Durand (1982) confirme que cette valeur est obtenue après 12 semaines de mise en sel avec un produit qui présente les caractères anchoités convenables. Selon cet auteur, ce dernier rapport est satisfaisant dans la mesure où un plus grand nombre de réactions biochimiques du métabolisme azoté sont prises en compte. Campello (1985b) obtient la même valeur au bout de 12 semaines alors que tous les caractères organoleptiques de l'anchoitage sont apparus depuis quelques semaines, à l'exception de la coloration rose qui n'est visible qu'un mois plus tard. Enfin, Pérez-Villarreal et Pozo (1992) confirment l'existence d'une bonne corrélation entre le rapport NNP/NT et le temps de maturation avec une valeur de 40 pour cent indiquant le «point de maturation».

Comme on le voit, il n'y donc pas unanimité quant à la valeur de ce deuxième rapport qui semble pourtant plus satisfaisant que le premier. Cela serait dû à une variation dans les méthodes organoleptiques utilisées par les auteurs.

En 1984, Filsinger, Barassi et Lupin ont proposé l'indice ABVT, utilisé pour apprécier l'altération de l'anchois frais, comme paramètre chimique objectif pour le suivi des différentes étapes de la maturation de l'anchois.

Compréhension du phénomène de maturation

S'il est communément admis que la maturation est un processus enzymatique, l'origine et la nature des enzymes en cause restent inconnues pendant longtemps.

Le suivi analytique au cours de la maturation a bien montré la pénétration rapide du sel permettant l'acquisition par le substrat (muscle de l'anchois) après seulement 2 jours de maturation des caractéristiques physico-chimiques suivantes: pH de 5,3 à 5,7, $a_w \leq 0,76$, teneur en NaCl > 15% et une humidité < 50%. Ces conditions sont indéniablement hostiles à toute activité microbienne avant la sélection d'une flore halophile, qui ne peut se produire qu'après trois mois de maturation lorsque cette dernière est conduite à température ambiante. Ces conditions amènent les spécialistes

à privilégier de façon quasi-unanime l'action des enzymes tissulaires, particulièrement les enzymes digestives auxquelles on attribue un rôle en tant qu'agents primordiaux de la maturation. Les enzymes musculaires (cathepsines) n'auraient qu'un rôle secondaire du moment que leur activité est inhibée aux concentrations en sel ($> 15\%$) atteintes rapidement dans le muscle au début de la maturation. Par ailleurs, le rôle des enzymes digestives se justifie pour les raisons suivantes:

- Une éviscération totale conduit à l'obtention d'un produit sous-maturé. À l'opposé, l'absence d'éviscération aboutit à un produit suranchoité. Des essais comparatifs entre des lots d'anchois totalement éviscérés, partiellement éviscérés et non éviscérés ont montré que l'éviscération affecte le temps nécessaire pour atteindre «le point de maturation», avec une différence de 45 jours entre les lots partiellement éviscérés et les lots totalement éviscérés pour une température de maturation de 20 °C (Pérez-Villarreal et Pozo, 1992).
- Les enzymes digestives notamment celles des coeca-pylores et de l'intestin, apparentées à la trypsine, ne sont pas affectées par des concentrations élevées en NaCl; ce dernier à la concentration molaire de 50 mM aurait même un effet stabilisant sur ces enzymes (Martinez, Olsen et Serra, 1988).
- La faible densité bactérienne dénombrée au cours de la maturation (Bensalma, 1996), le faible potentiel enzymatique des isolats (Akel, 1993; Huss et Valdimarsson, 1990) et l'absence de la flore protéolytique (Azhari, 1998; Akel, 1993).
- L'impossibilité de réussir une maturation convenable avec l'anchois ayant subi la congélation; cette dernière provoquant la dénaturation des enzymes tissulaires (Baldrati *et al.*, 1975).

Parce qu'une flore halophile se développe durant les dernières étapes de l'anchoitage, Pérez-Villarreal et Pozo (1992) lui attribuent un certain rôle en fin de maturation. Cependant, cette flore ne s'installe et ne devient active qu'après la maturation, elle serait plutôt responsable de l'altération (protéolyse et production d'histamine) comme le montrent les essais de conservation à température ambiante (Romli, 1993).

2.2.4 Lavage-égouttage

Le lavage a pour objet de débarrasser le poisson des restes de sel et de le préparer pour l'opération de filetage. Ce lavage se fait à l'aide d'une saumure saturée, fraîchement préparée en utilisant de l'eau potable. C'est une nécessité technique pour éviter des pertes de sel intramusculaire.

Généralement, on procède en deux temps: un premier lavage à l'aide d'une saumure froide suivie d'un deuxième lavage à l'aide d'une saumure chaude (60 à 70 °C), ce qui a pour effet de débarrasser le muscle d'une partie de la peau.

Après lavage, le poisson est égoutté par centrifugation mécanique.

2.2.5 Filetage

Il consiste à lever parallèlement à la colonne vertébrale sur toute la longueur du poisson, étêté et équeuté, deux bandes musculaires, pratiquement identiques, débarrassées des arêtes et restes de viscère et peau. Il se pratique manuellement par des ouvrières. Cette étape doit s'effectuer le plus rapidement possible et, surtout, requiert un haut niveau d'hygiène du personnel afin d'obtenir un produit salubre.

Les filets ainsi préparés et sélectionnés peuvent être présentés des deux manières suivantes:

- filets allongés: disposés à plat en couches parallèles à l'une et/ou l'autre, des parois de l'emballage;
- filets roulés: enroulés sur eux mêmes, sur toute leur longueur avec ou sans garniture.

2.2.6 Conditionnement

Cette étape comporte trois opérations, à savoir: la mise en boîte ou en bocaux, l'assaisonnement, et enfin, le sertissage/capsulage.

Les filets sont disposés manuellement dans les boîtes ou en bocaux. L'ensemble est alors pesé pour normaliser le contenu en fonction de la capacité déclarée de chaque contenant.

L'assaisonnement consiste à ajouter le milieu de couverture aux filets d'anchois suivant le choix des clients. Le milieu de couverture (huile d'olive ou tout autre huile végétale raffinée) peut contenir d'autres ingrédients ajoutés au poisson avant la fermeture du conditionnement, tels que les aromates (végétaux aromatiques tels les morceaux de citron, oignon, cornichon, clou de girofle, laurier, thym, poivre en grain, etc.) ou leurs extraits aromatiques.

Cette opération se pratique le plus souvent, mécaniquement. Le sertissage est l'opération mécanique qui consiste à assembler un couvercle, encore appelé fond, sur un corps de la boîte pour en assurer une fermeture étanche, au moins aux liquides. Généralement, cette opération est réalisée à l'aide de sertisseuses qui fonctionnent de façon automatique.

Les boîtes utilisées peuvent être en aluminium, en fer blanc ou en matériaux flexibles et stérilisables (*flexible pouches*). Lorsque les anchois sont conservés dans des bocaux en verre, ceux-ci sont fermés à l'aide de capsules métalliques afin d'en assurer l'étanchéité au moins aux liquides.

2.2.7 Marquage

Le marquage a pour objet d'informer l'utilisateur sur le produit et de répondre aux exigences de la traçabilité nécessaire à l'identification du lot. Il peut être réalisé, selon la nature de l'emballage, par estampage, jet d'encre, impression directe ou simple étiquetage.

Les éléments du marquage doivent répondre aux prescriptions réglementaires en vigueur dans chaque pays. Dans tous les cas, au minimum, ils doivent comporter les indications suivantes:

- la dénomination commerciale de vente (ex: anchois salés à l'huile d'olive);
- l'origine et le lot de fabrication;
- les conditions d'utilisation notamment la température et la durée de conservation; et
- le poids net.

2.2.8 Lavage

Il a pour objet d'éliminer les taches d'huile et autres encore adhérentes à la boîte afin d'avoir une meilleure présentation des produits. Cette opération s'effectue mécaniquement en trois temps: application d'un détergent à chaud, rinçage et, enfin, séchage des boîtes dans un tunnel parcouru d'un courant d'air chaud.

2.2.9 Entreposage

Les conditions requises pour un entreposage adéquat sont en premier lieu le respect d'une température basse, inférieure à 20 °C, voire même à 15 °C. Il ne faut pas oublier que les produits en question sont des semi-conserves c'est à dire des produits dont la conservation est limitée dans le temps à basse température. À ces températures, les semi-conserves d'anchois gardent leurs caractéristiques originelles pendant au moins un an.

Il est communément admis que les semi-conserves sont généralement des produits dont la conservation est basée sur l'inhibition (et non la destruction) de la flore pathogène quand elle existe et de la majorité de la flore d'altération (flore protéolytique). De ce fait, la durée de conservation de ces produits est limitée dans le temps, de quelques semaines à plusieurs mois, lorsqu'ils sont entreposés à une température contrôlée.

Des essais portant sur cinq lots d'anchois salés provenant de deux usines au Maroc ont été réalisés en vue de déterminer leur durée de conservation à température basse (Romli, 1993). Les lots ont été subdivisés en deux groupes: l'un entreposé à basse température (5 °C), l'autre à température ambiante (20 à 25 °C) pendant une période minimale de sept mois.

À des intervalles réguliers, les lots ont été suivis du point de vue chimique et microbiologique. Parallèlement, l'appréciation de l'aspect de l'huile de couverture (claire ou trouble) et l'apparition d'un éventuel bombement des boîtes était noté.

Le suivi chimique comprenait la mesure du pH, la détermination des teneurs en ABVT, en TMA, en histamine, en azote soluble et en azote non protéique soluble, et enfin, la mesure de l'acidité oléique. Les analyses bactériologiques ont concerné les dénombrements de la FMAT, de la FHM et de la FPHS.

L'exploitation des résultats, dont les valeurs représentent la moyenne de 5 lots et qui sont résumés sur le tableau 2.8, a permis de tirer les conclusions importantes détaillées ci-après:

- Le pH augmente aussi bien pour les lots entreposés à basse température que pour les lots maintenus à température ambiante. Il passe de 5,40 à J₀ (début de l'entreposage) à des valeurs de 5,51 et 5,72, respectivement pour les lots stockés pendant 195 jours à basse et moyenne température. Lorsque les lots sont considérés individuellement, le bombement des boîtes, quand il survient, coïncide avec un pH voisin de 5,7. Cette situation est observée sur deux lots, après 165 jours de stockage à température moyenne.
- L'ABVT voit sa teneur initiale moyenne (environ 48 mg N/100 g) augmenter pour atteindre des valeurs de 66 mg N/100 g et 90 mg N/100 g après sept mois d'entreposage, respectivement pour les lots entreposés à température basse et à température moyenne. L'accumulation de l'ABVT est donc plus nette à température ambiante particulièrement pour deux lots où des teneurs de 119,91 et 143,36 mg N/100 g sont enregistrés après 165 jours de stockage. Cette production excessive coïncide avec le bombement de plus de 30 pour cent des boîtes formant les lots. Cette augmentation est principalement due à la production d'ammoniac par voie enzymatique et rend l'indice ABVT inapproprié pour évaluer l'altération des produits finis. Cependant cet indice garde toute sa valeur pour l'appréciation du degré d'altération de l'anchois en tant que matière première.
- L'azote soluble, obtenu à partir d'un broyat de filet d'anchois, stocké une nuit au réfrigérateur puis centrifugé, et l'azote non protéique soluble, préparé par traitement à l'acide trichloracétique à 20 pour cent du centrifugeat, voient leurs teneurs augmenter tout au long de la période de stockage. Cependant, l'augmentation est plus nette pour les échantillons provenant de lots entreposés à température moyenne. Cette évolution est le témoin d'une protéolyse qui se traduit par la libération de peptides et d'acides aminés qui s'accumulent dans l'huile de couverture en provoquant son trouble (Pirati et Guidi, 1971). Ce dernier qui est observé un mois avant le bombement des boîtes coïncide avec des teneurs en ABVT, azote soluble et azote non protéique soluble, respectivement de 82 mg N/100 g, 1,89 g N/100 g et 1,75 g N/100 g. La protéolyse s'accompagne également de production de gaz, notamment le dioxyde de carbone et l'hydrogène, qui entraînent le bombement des boîtes (Pirati et Guidi, 1971).
- La TMA passe d'une teneur moyenne de 3,7 mg N/100 g dans le poisson frais à des valeurs comprises entre 5 et 6 mg N/100 g, en fonction de la température de stockage. L'accumulation lente et progressive ne présente pas de différences significatives entre les lots stockés à basse température et ceux entreposés à température moyenne. Du moment que l'OTMase bactérienne est inhibée dès que la teneur en sel dépasse 10 pour cent (Nozawa, Ishida et Kadota, 1979), l'augmentation relative est attribuée à une dégradation de l'OTMA par voie

chimique, ce qui s'explique aussi par la faible accumulation de la DMA. Ces considérations amènent à conclure que la TMA peut être considérée comme un indice fiable pour apprécier la qualité des semi-conserves d'anchois. Sa présence à des taux excessifs dans les produits finis traduit beaucoup plus l'effet de l'utilisation d'une matière première altérée (teneur élevée en TMA dans le poisson frais) qu'une accumulation au cours de la fabrication ou pendant le stockage.

- Les teneurs initiales en histamine sont de l'ordre de 4,5 mg N/100 g de chair. Au bout de 5 mois de stockage à température ambiante, elles atteignent des valeurs de l'ordre de 18 mg N/100 g et à partir du sixième mois dépassent les valeurs de 35 mg/100 g.

Il est très important de noter que l'augmentation du taux d'histamine est précédée un mois avant par l'apparition d'un trouble de l'huile de couverture et coïncide avec le bombement des boîtes. À basse température et jusqu'au 18ème mois, les teneurs sont toujours restées inférieures aux limites acceptables (10 mg N/100 g). Ces résultats confirment ceux des travaux effectués par Veciana Nogues, Vidal Carou et Marine Font (1989) sur les mêmes produits entreposés à basse température (4 à 6 °C) et à température ambiante (18 à 22 °C). Après 6 et 8 mois de stockage à température ambiante, les teneurs enregistrées sont respectivement de 11,7 et 21 mg/100 g de muscle tandis que celles des boîtes entreposées à basse température étaient restées constantes de l'ordre de 2 mg/100 g.

Malgré des teneurs en chlorure de sodium supérieures à 15 pour cent, lorsque les conditions de température sont favorables, il y a production notable d'histamine à des taux susceptibles de dépasser les limites réglementaires. Les entérobactéries, principales productrices d'histamine dans le poisson frais, sont, dans la plus grande majorité inhibées dès que le taux de sel dépasse 5 pour cent. La production d'histamine observée dans les lots entreposés à température ambiante est attribuée à la sélection de bactéries halophiles dont principalement *Pediococcus halophilus*, capable de produire de l'histamine même à des teneurs en sel voisines de 20 pour cent (Karnop, 1988). Cette bactérie est strictement mésophile et sa croissance est inhibée dès que la température est inférieure à 15 °C. Ces propriétés expliquent pourquoi l'histamine voit ses teneurs toujours inférieures aux limites acceptables à basse température et peuvent atteindre, voire dépasser, les limites d'acceptabilité lorsque la température de stockage devient favorable.

- L'évolution de l'acidité de l'huile de couverture, paramètre qui traduit le degré de lipolyse, révèle que sa teneur augmente au cours de l'entreposage, particulièrement dans les lots entreposés à température ambiante, en restant nettement au dessous des normes (2,5 pour cent) jusqu'au septième mois de stockage.
- Les résultats des analyses bactériologiques révèlent qu'au cours de l'entreposage dans des conditions favorables de température, la flore productrice d'H₂S, potentiellement protéolytique, est absente, la flore aérobie mésophile diminue et la flore halophile augmente. Une telle évolution suggère une sélection des bactéries halophiles susceptibles de provoquer l'altération halophile (protéolyse et production d'histamine).

Le suivi comparatif du comportement des semi-conserves d'anchois à basse et moyenne températures montrent bien que les caractéristiques physico-chimiques acquises en fin de maturation, notamment une concentration en sel supérieure à 15 pour cent et une a_w inférieure ou égale à 0,76, ne permettent pas une inhibition complète des bactéries. Lorsque la température est favorable (20 à 25 °C), il y a sélection, après trois mois de stockage, d'une flore halophile dont la multiplication se traduit par une protéolyse, une lipolyse au niveau de l'huile de couverture et une accumulation de l'histamine pouvant dépasser largement la limite d'acceptabilité. Lors d'un stockage à basse température, ces processus d'altération sont nettement inhibés car la flore halophile est mésophile. Toutes ces considérations confirment la recommandation d'entreposer les semi-conserves d'anchois salés aux températures inférieures ou égales à 10-15 °C pendant une durée maximale d'au moins un an.

TABLEAU 2.8
Évolution de divers paramètres chimiques et bactériologiques des semi-conserves d'anchois pendant l'entreposage en fonction de la température

Paramètres analysés										
Conditions de stockage (durée, température)		pH	ABVT ²	Azote ³ Soluble	Azote ³ Non protéique	TMA ²	Histamine ²	Acidité ⁴ oleique	FMAT ⁵	FHM ⁵
J ₀		5,40	47,91	-	-	3,68	4,54	0,33	7,8.10 ³	1,2.10 ⁴
J ₁₅	5 °C	5,42	51,06	1,55	1,43	3,74	4,09	0,35	5,9.10 ³	1,1.10 ⁴
	temp. ambiante	5,41	53,17	1,56	1,46	4,05	4,90	0,38	1,9.10 ³	0,3.10 ⁴
J ₄₅	5 °C	5,47	49,58	1,53	1,42	4,11	3,44	0,37	5,5.10 ³	1,8.10 ⁴
	temp. ambiante	5,49	64,08	1,67	1,50	4,61	4,66	0,47	1,8.10 ³	0,3.10 ⁴
J ₇₅	5 °C	5,45	52,19	1,55	1,50	4,30	3,77	0,38	4,8.10 ³	0,5.10 ⁴
	temp. ambiante	5,55	71,68	1,79	1,64	5,04	5,94	0,53	1,1.10 ³	0,1.10 ⁴
J ₁₀₅	5 °C	5,43	56,23	1,61	1,50	4,80	3,99	0,44	4,9.10 ³	0,6.10 ⁴
	temp. ambiante	5,51	79,69	1,86	1,75	4,95	5,23	0,56	1,4.10 ³	0,2.10 ⁴
J ₁₃₅	5 °C	5,48	63,75	1,56	1,47	5,18	3,43	0,48	4,8.10 ³	0,5.10 ⁴
	temp. ambiante	5,51	81,64	1,89	1,75	4,86	5,71	0,58	1,4.10 ³	0,2.10 ⁴
J ₁₆₅	5 °C	5,50	66,29	1,65	1,54	5,05	3,47	0,52	4,9.10 ³	0,6.10 ⁴
	temp. ambiante	5,69	89,47	1,97	1,90	4,74	16,03	0,63	0,4.10 ³	0,4.10 ⁴
J ₁₉₅	5 °C	5,51	68,11	1,71	1,56	6,20	4,92	0,57	5,2.10 ³	0,7.10 ⁴
	temp. ambiante	5,72	99,12	2,14	2,01	5,07	37,24	0,98	0,3.10 ³	0,1.10 ⁴

¹ Les résultats présentés constituent la moyenne de 5 lots expérimentés.

² Résultats exprimés en mg N/100 g de muscle.

³ en g/100 g de muscle

⁴ en g pour 100 g d'huile de couverture.

⁵ Unité formant colonie (UFC) par gramme de muscle

3. Caractérisation des dangers liés à la production des semi-conserves d'anchois salés

On entend par danger «un agent biologique, chimique ou physique présent dans l'aliment ou état de cet aliment pouvant avoir un effet nocif sur la santé» (Codex Alimentarius, 2003a). Ce chapitre est consacré à la caractérisation des dangers qui pourraient être associés à la production des semi-conserves d'anchois salés. Ces dangers peuvent être biologiques (surtout bactériologiques), chimiques ou physiques.

3.1 DANGERS BIOLOGIQUES (BACTÉRIOLOGIQUES)

Les bactéries pathogènes, susceptibles d'être véhiculées par les produits de la pêche, peuvent être divisées en deux groupes (Huss, Ababouch et Gram, 2004):

- Un groupe formé de bactéries indigènes c'est à dire natives du milieu marin. est représenté par les genres ou espèces suivants: *Clostridium botulinum*, *Vibrio* sp. (*V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* et *V. vulnificus*), *Aeromonas hydrophila*, *Plesiomonas shigelloides* et *L. monocytogenes*.
- Un groupe constitué de bactéries non indigènes du milieu marin, dont la présence dans les produits de la pêche est le plus souvent consécutive à une contamination post-capture par les manipulateurs humains, par l'eau non potable, la glace fabriquée à partir d'eau non potable ou par un environnement (ustensils, équipement, locaux) mal nettoyé ou mal désinfecté. Ce groupe est représenté par les entérobactéries (e.g. *E. coli* et *Salmonella*) et les staphylocoques entérotoxigènes.

Parmi ces bactéries, celles dont l'apparition dans les semi-conserves d'anchois salés peut être raisonnablement envisagée concernent *C. botulinum*, les bactéries productrices d'histamine, *Staphylococcus aureus* et les entérobactéries pathogènes (*E. coli* et *Salmonella*).

3.1.1 *Clostridium botulinum*

C. botulinum est une bactérie à Gram positif, sporulée, anaérobie stricte appartenant à la famille des Bacillaceae. Cette bactérie est redoutable parce qu'elle produit une neurotoxine dont l'ingestion entraîne le botulisme chez l'homme, maladie assez grave, voire mortelle. Cette intoxication est causée par la toxine préformée dans l'aliment. Les symptômes qui apparaissent généralement 18 à 36 heures après l'ingestion de l'aliment impliqué, se manifestent par la nausée et des vomissements mais la manifestation clinique dominante, en raison du neurotropisme de la toxine, est l'apparition de signes neurologiques graves. Ces derniers se traduisent par des troubles de la vision (double vision) et une paralysie totale ou partielle pouvant conduire à la mort par asphyxie (paralysie du diaphragme et des muscles de la poitrine). Quant l'issue n'est pas fatale, la convalescence est souvent lente (de 4 à 6 mois) et les séquelles graves. Si le botulisme est une maladie grave, sa fréquence est très basse.

Sur la base des caractères sérologiques de la toxine, *Clostridium botulinum* peut être groupée en huit types (A, B, C₁, C₂, D, E, F et G). En fonction de leur aptitude à dégrader les protéines, Farber (1991) distingue deux groupes parmi les types pathogènes pour l'homme (tableau 3.1):

TABLEAU 3.1

Caractéristiques de *Clostridium botulinum* (d'après Farber, 1991)

Propriété	<i>Clostridium botulinum</i>	
	Groupe I	Groupe II
Protéolyse	+	–
Type de toxine	A, B, F	E, B, F
Botulisme chez l'homme	+	+
pH d'inhibition	4,6	5,0
Concentration inhibitrice en NaCl	10%	5%
A _w (Activité de l'eau) minimale	0,94	0,97
Température de croissance	10-48	3,3-45
D _{100°C} des spores*	25 min	< 0,1 min

* D_{100°C}: Le temps de réduction décimale à 100 °C, c'est-à-dire le temps de traitement à 100 °C, nécessaire pour réduire une charge microbienne à 1/10ème de sa valeur initiale.

- Les types protéolytiques A, B et F qui sont thermorésistants, mésophiles et halotérants.
- Les types E, B et F non protéolytiques qui sont thermosensibles, psychrotrophes et halosensibles. Ce sont ces derniers types qui sont généralement rencontrés dans l'habitat marin, particulièrement les sédiments. Comme conséquence de la présence de ces organismes dans l'environnement marin, les produits de la pêche peuvent être naturellement contaminés par *C. botulinum*.

Ainsi, *C. botulinum* type E a été isolé des sédiments d'eau douce aux États-Unis d'Amérique et au Danemark, des sédiments de mer en Scandinavie, en Amérique du Nord (États-Unis d'Amérique et Canada) ainsi qu'à partir d'organismes aquatiques incluant aussi bien les poissons benthiques (le flet par exemple) que les pélagiques tels le hareng ou la morue (Gram, 2001). Dans une recherche effectuée par Baker, Genigeogis et Garcia (1990), deux études de prévalence conduites l'une sur 166 produits de la mer frais et l'autre sur 36 filets de poisson ont révélé des incidences respectives de 21,7 et 66,7 pour cent.

Bien que des cas de botulisme soient sporadiquement signalés dans plusieurs pays à travers le monde, les données épidémiologiques les plus complètes sont surtout disponibles dans les pays développés. Ces données indiquent que la majorité des foyers de botulisme survenus dans les régions tempérées et nordiques sont associés au poisson et, en général, le type E est la toxine responsable (Huss, Ababouch et Gram, 2004), quoique que les types A et B peuvent également être présents, croître dans les produits de la pêche et être la cause du botulisme. Sur 41 foyers de botulisme dus aux produits de la pêche aux États-Unis d'Amérique entre 1899 et 1977, 25 étaient dus au type E, 11 au type A et 4 au type B (Eyles et Warth, 1981).

Une étude menée par Huss (1993) indique que sur 165 foyers de botulisme survenus en Amérique du Nord, au Japon et en Scandinavie sur une période de 25 ans, les produits ayant fait l'objet d'un traitement de stabilisation limité (produits fumés ou fermentés) représentent de loin le groupe de produits le plus dangereux (123 cas sur 165). Les semi-conserves (17 cas sur 165) et les conserves appertisées (3 cas sur 165) ont également été incriminées.

Les tableaux 3.2 et 3.3 résument les caractéristiques de croissance de *C. botulinum*. Il en ressort que quelque soit le type, les conditions physico-chimiques qui empêchent la croissance de la bactérie sont un pH <4,6; une a_w <0,94; une température <3,3 °C ou une concentration en NaCl >10%. Il faut préciser que chacun de ces facteurs est pris séparément. Quand ils sont associés, ces paramètres interagissent pour créer une inhibition microbienne à des valeurs moins extrêmes que celles évoquées ci-dessus. Par exemple, *C. botulinum* type E est inhibé à des valeurs de pH <4,6 quand il est cultivé à 30 °C mais à 5 °C, sa croissance est inhibée par des pH <6,2 (Owens et Mendoza, 1985). De même, la concentration en sel a une influence très importante car le salage constitue l'élément technologique fondamental de stabilisation des semi-conserves d'anchois salés. Sous des conditions favorables de croissance, 5 à 10 pour cent de sel

sont nécessaires pour inhiber *C. botulinum* quel que soit le type sérologique (tableau 3.1). Mais, il faut plus de sel à température moyenne (37 °C) qu'à basse température. De même, si un taux de 5 pour cent en NaCl est nécessaire pour inhiber la croissance du type E, un abaissement du pH à 6,2-6,5 réduit la tolérance à moins de 5 pour cent (Gram, 2001). Huss, Ababouch et Gram (2004) ont résumé l'importance de ces interactions dans le tableau 3.2.

TABLEAU 3.2

Effet combiné de la température, pH et concentration en sel pour inhiber la croissance de *Clostridium botulinum* dans les produits alimentaires

Température	Concentration en sel				Traitement thermique	
T < 3,5 °C						
3,5 °C < T < 10 °C	et	(pH < 5,0	OU	CSA ¹ > 3,5%	ou	90 °C, 10 min)
T > 10 °C	et	(pH < 4,5	OU	CSA > 10%	ou	121 °C, 2,4-3 min)

¹ CSA: Concentration en sel dans la phase aqueuse du muscle de poisson

Non seulement la concentration en sel est importante, mais la vitesse de pénétration du sel dans le muscle doit également être prise en considération. Selon Owens et Mendoza (1985), la concentration saline dans la phase aqueuse du muscle de l'anchois immergé dans la saumure à 20 pour cent atteint 10 pour cent après 12 heures et 18 pour cent après 24 heures. Le suivi analytique des semi-conserves d'anchois salés montre que la concentration saline atteint 10 pour cent au cours du présalage et 15 pour cent après 24 heures de maturation (Chapitre 2). En fin de maturation, le muscle de l'anchois acquiert les caractéristiques physico-chimiques suivantes:

- concentration saline: > 15%
- a_w : < 0,76
- humidité: < 50%
- pH: 5,3-5,7

Ces caractéristiques ainsi que la vitesse de pénétration du sel montrent bien que le risque de la toxinogénèse par *C. botulinum* est pratiquement nulle, à condition qu'on s'assure que le taux de 10 pour cent de NaCl (CSA) soit atteint au niveau du présalage et celui de 15 pour cent après 24 heures de maturation.

3.1.2 Entérobactéries pathogènes

Les entérobactéries pathogènes dont la présence dans les semi-conserves d'anchois salés peut être raisonnablement envisagée sont représentées par *Escherichia coli*, *Salmonella* et des entérobactéries productrices d'histamine.

3.1.2.1 *Escherichia coli*

E. coli appartient à la famille des entérobactéries. C'est une bactérie commune au tractus gastro-intestinal de l'homme et des animaux à sang chaud. Généralement les souches qui colonisent le tube digestif se comportent en commensal inoffensif et depuis longtemps, *E. coli* est considérée comme indicateur de la contamination d'origine fécale de l'eau et des aliments. Sa présence dans ces derniers peut signifier celle d'autres microorganismes considérés comme plus redoutables tels que les salmonelles ou les virus. Mais *E. coli* est bien plus qu'un simple microorganisme indicateur puisqu'au sein de cette espèce, il existe des souches pathogènes pour l'homme, classées en pathovars définis sur la base des facteurs de virulence, des symptômes cliniques et des antigènes O (somatique) et H (flagellaire). Les groupes importants sont (Doyle *et al.*, 1997):

- *E. coli* entéro-pathogène (ECEP)
- *E. coli* entéro-toxinogène (ECET)
- *E. coli* entéro-invasive (ECEI)
- *E. coli* à adhésion diffuse (ECAD)

- *E. coli* entéroagréant (ECEAg)
- *E. coli* entérohémorragique (ECEH)

La description des facteurs de virulence a permis de caractériser les souches associées à des pathologies différentes (septicémie, diarrhée, méningite) ainsi que des souches responsables d'un même type de pathologie (diarrhée).

Il n'existe aucun cas documenté d'infection alimentaire à *E. coli* impliquant les produits de la pêche (Huss, Ababouch et Gram, 2004). De plus, les différentes souches sont assez sensibles au sel. Par conséquent, le respect des bonnes pratiques hygiéniques et de fabrication devrait permettre de maîtriser les risques d'infection par *E. coli*.

3.1.2.2 *Salmonella*

Les salmonelles appartiennent à la famille des Entérobactéries. Au sein du genre *Salmonella*, on reconnaît deux espèces: *S. enterica* et *S. bongori*. La première espèce comprend six sous-espèces, chacune d'elles étant divisée en plusieurs sérotypes (Huss, Ababouch et Gram, 2004).

Ces organismes mésophiles apparaissent principalement dans le tube digestif de l'homme et des animaux ainsi que dans les environnements pollués par les fèces humains ou animaux. Ils sont pathogènes soit exclusivement pour l'homme (*S. typhi*) soit exclusivement pour l'animal (*S. abortus*) soit le plus souvent pour les deux. Chez l'homme, les principaux symptômes, qui apparaissent généralement 12 à 36 heures après ingestion du produit contaminé, sont représentés par la fièvre, les douleurs abdominales, la diarrhée, les nausées et les vomissements. Cependant, ces signes cliniques peuvent varier considérablement d'une maladie grave au simple portage provoquant une infection asymptomatique, en fonction de la virulence de la souche, de l'état immunitaire de l'hôte et de la dose infectante.

Tous les aliments peuvent être contaminés par les salmonelles mais les produits de la pêche, moins fréquemment contaminés que les autres aliments, sont par conséquent rarement des véhicules de salmonelles pour l'homme, à l'exception des coquillages et des produits d'aquaculture, notamment en zone tropicale (Dalsgaard, 1998; Feldhusen, 2000).

TABLEAU 3.3

Caractéristiques physico-chimiques pour l'inhibition de la croissance de quelques bactéries pathogènes (adapté de Huss, 2004 et Farber, 1991)

Bactéries	valeurs minimales des paramètres physico-chimiques			
	pH	A _w (activité de l'eau)	NaCl (CSA) ¹	Température
<i>Clostridium botulinum</i>	< 4,6	< 0,94	> 10%	< 3,3 °C
<i>Escherichia coli</i>	< 4,4	< 0,94	> 6%	< 5 °C
<i>Salmonella</i>	< 4,5	< 0,95	> 5%	< 7 °C
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 4,5	< 0,83%	> 15%	< 7 °C

¹ CSA: Concentration en sel dans la phase aqueuse du muscle de poisson

Considérant ces facteurs qui conditionnent la croissance limite, on voit qu'*E. coli* présente une résistance légèrement supérieure à *Salmonella* vis à vis du sel, quoiqu'une teneur supérieure à 6 pour cent (ou une a_w inférieure à 0,94) inhibe totalement les deux entérobactéries pathogènes. Dans le cas des semi-conserves d'anchois, des teneurs en sel dépassent 10 pour cent sont rapidement atteintes dans le muscle (moins de 24 heures) au niveau de l'étape présalage. Cependant, il est nécessaire de rappeler que *Salmonella* peut survivre dans une solution à 10 pour cent de sel pendant 1 à 3 mois et *E. coli* plusieurs semaines dans le poisson salé (Huss et Valdimarsson, 1990).

De nouveau, le respect des bonnes pratiques hygiéniques et de fabrication devrait permettre de maîtriser les risques d'infection par *Salmonella*.

3.1.3 *Staphylococcus aureus*

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des Micrococcaceae et comprend plusieurs espèces dont *Staphylococcus aureus*, seule espèce pathogène pour l'homme parce qu'elle est capable de produire une entérotoxine.

Les symptômes qui sont dus à l'ingestion de l'entérotoxine préformée dans l'aliment, apparaissent rapidement et sont caractérisés par l'absence de fièvre et par la nausée, des vomissements, et quelquefois de la diarrhée avec douleurs abdominales. Généralement, la maladie est bénigne et les symptômes disparaissent au bout de 24 heures. Dans les cas sévères, la déshydratation peut avoir des conséquences graves.

Le principal réservoir est représenté par le rhinopharynx et la peau de l'homme et des animaux. On estime jusqu'à 60 pour cent de la population humaine porteuse de *S. aureus* dont 25 à 30 pour cent étant positive pour la production d'entérotoxine (Huss, 1993).

Cette bactérie survit bien dans l'environnement et peut être isolée à partir de diverses sources telles que l'eau, la poussière, l'air, le sol ou les surfaces qui peuvent constituer à leur tour des sources de contamination pour l'homme et les animaux (Huss, 1993; Huss, Ababouch et Gram, 2004). Les produits de la pêche sont généralement contaminés par les manipulateurs porteurs de lésions cutanées ou présentant une infection à la gorge. Cependant, les staphylocoques peuvent être isolés à partir du poisson juste après capture, spécialement des eaux chaudes (Gram et Huss, 2000).

Les caractéristiques de croissance figurent dans le tableau 3.3. *S. aureus* est une bactérie mésophile et peut croître à l'intérieur d'une gamme de températures comprise entre 7 et 47 °C avec une croissance optimale à 37 °C. Les valeurs de température qui permettent la synthèse des entérotoxines sont situées dans l'intervalle de 10 °C à 46 °C avec une production optimale aux alentours de 40 °C (Tatini, 1973). De telles conditions de température pourraient expliquer la fréquence élevée des intoxications staphylococciques pendant les mois les plus chauds (Huss, 2004).

Le pH optimal de croissance de *S. aureus* et de la production des toxines se situe entre 6,0 à 7,0 avec des valeurs extrêmes de 4,5 à 9,3 (Tatini, 1973). Vis à vis du NaCl, la bactérie se comporte en halotolérante du moment qu'elle peut croître en présence de 15 pour cent de chlorure de sodium (Tatini, 1973), teneur rencontrée habituellement dans les semi-conserves d'anchois salés. Cependant, l'entérotoxigénèse est plus sensible aux concentrations élevées de NaCl que ne l'est la croissance de *S. aureus* (Smith, Buchanan et Palumbo, 1983). Généralement, dès que la concentration du milieu en sel dépasse 10 pour cent, la production de toxines est inhibée. Enfin, signalons que *S. aureus* peut survivre plusieurs semaines dans le poisson salé (Huss et Valdimarsson, 1990).

Un autre élément à prendre en considération est l'action antagoniste de la flore compétitive. Les staphylocoques sont considérés comme de faibles compétiteurs et la présence de *S. aureus* dans les produits crus a de faibles conséquences hygiéniques (Huss, 1993). Dans les produits où la flore compétitive a été éliminée (conserves appertisées ou produits précuits) ou réduite (cas des produits salés par exemple), une recontamination par *S. aureus* constitue un danger réel. Dans le cas des semi-conserves d'anchois salés, le filetage qui se pratique manuellement après salage-maturation, étape qui se traduit par une réduction partielle de la flore compétitive, constitue une étape critique de recontamination par *S. aureus*.

3.1.4 Bactéries productrices d'histamine

Le mécanisme de formation de l'histamine dans le muscle du poisson a déjà été traité dans le chapitre précédent. L'accumulation dans le muscle du poisson frais est due quasi-exclusivement aux entérobactéries. Parmi ces dernières, *Morganella morganii*, *Raoultella planticola* (anciennement *Klebsiella pneumoniae*) et *Hafnia alvei* ont été fréquemment isolées du poisson impliqué dans les incidents d'intoxication histaminique (Kanki *et al.*, 2004) mais l'enzyme histidine-décarboxylase est largement distribuée chez toutes les entérobactéries. Ces dernières qui ne font pas partie de la flore naturelle du poisson mais le contaminent après capture, présentent la propriété d'être mésophiles, ce qui explique que généralement la production d'histamine est beaucoup plus importante quand le poisson est exposé aux températures élevées (Ababouch *et al.*, 1991).

Il a été admis pendant longtemps que la réfrigération ou le glaçage appropriés constitue un moyen efficace pour maîtriser la production d'histamine. Mais plusieurs études ont démontré que cette amine peut aussi s'accumuler à des taux toxiques même à basse température dans la sardine (Ababouch *et al.*, 1991), dans le saumon emballé sous vide (Jørgensen, Huss et Dalgaard, 2000) ou dans le thon (Emborg, Laursen et Dalgaard, 2005; Dalgaard *et al.*, 2007). Ces derniers auteurs ont identifié les bactéries responsables comme étant de la famille des Enterobacteriaceae, notamment l'espèce *Morganella psychrotolerans* et de la famille des Vibrionaceae, notamment l'espèce *Photobacterium phosphoreum*. Les implications que ces dernières présentent pour l'accumulation de l'histamine dans les anchois pendant le salage doivent être étudiées soigneusement pour développer les meilleures mesures de maîtrise de ce risque. Des études préliminaires conduites au Maroc sur l'anchois entreposé sous glace, ont montré que les teneurs enregistrées après 10 jours étaient de 5,06 mg/100 g de muscle tandis qu'elles atteignaient 84,3 mg/100 g en seulement un jour dans le muscle du même poisson stocké aux températures plus élevées (20-25 °C) (Chaouqy et El Marrakchi, 2005). Il est un fait qui mérite d'être souligné, c'est qu'au temps du rejet organoleptique du poisson sous glace qui correspond au moment où il entame son altération, les teneurs en histamine enregistrées sont toujours inférieures à 3 mg/100 g de muscle. Ces teneurs basses semblent indiquer qu'une réfrigération en l'absence d'altération qu'elle soit organoleptique ou chimique, peut signifier une accumulation d'histamine à des taux relativement bas. Cette observation, si elle est confirmée, est d'importance pratique puisqu'il suffit de vérifier, au moment de la réception, que le poisson a été correctement réfrigéré (mesure de la température à coeur) et qu'il ne présente pas de signes d'altération chimique et/ou organoleptique, pour considérer que la production d'histamine a été correctement maîtrisée.

Au cours de l'étape salage-maturation lors de la fabrication des semi-conserves d'anchois salés, il y a accumulation lente et progressive de l'histamine et au bout de quatre mois de maturation à 22-25 °C, les teneurs enregistrées restent inférieures à 6 mg/100 g (voir Chapitre 2, tableau 2.2). Cependant, à la fin de maturation, il y a sélection des halophiles parmi lesquels prédomine *Pediococcus halophilus* (Pérez-Villarreal et Pozo, 1992). Cette dernière bactérie se distingue par son caractère strictement mésophile (sa croissance est inhibée aux températures inférieures à 15 °C) et par sa capacité à produire l'histamine même à des teneurs en sel supérieures à 15 pour cent (Karnop, 1988). Ces deux propriétés (halophilie et mésophilie) expliquent que la production d'histamine à des taux inacceptables peut survenir au cours de la maturation lorsque celle-ci est conduite pendant plus de quatre mois aux températures de 22-24 °C et pendant l'entreposage-distribution lorsque les produits finis sont exposés à température élevée comme l'ont montré les essais de conservabilité à température ambiante (voir Chapitre 2). En conséquence, la maîtrise de la production d'histamine repose, là aussi, sur le recours à une température contrôlée lors des étapes de maturation, du stockage et de la distribution, en plus de la maîtrise de l'hygiène pendant la fabrication.

3.2 DANGERS CHIMIQUES

3.2.1 Métaux lourds

La présence des métaux lourds dans les aliments en général et les produits de la pêche en particulier constitue un problème majeur de santé publique dû souvent à la pollution de l'environnement marin par le rejet de déchets industriels et agricoles (Linde, Sanghez Galan et Garcia Vazquez, 2004). La bioaccumulation des traces de métaux lourds dans le poisson est maintenant bien admise. Les poissons prédateurs, en raison de leur comportement alimentaire, concentrent et véhiculent des métaux toxiques pour l'homme (Storelli et Marcotrigiano, 2004). Cependant, cette bioaccumulation

ne corrèle pas toujours bien avec la taille, le poids et l'âge du poisson ou sa longévité (Murphy *et al.*, 1978).

Plusieurs études ont été réalisées pour évaluer le niveau de contamination de l'environnement marin et des produits de la pêche par les métaux, principalement le mercure (Hg), le cadmium (Cd) et le plomb (Pb) en raison de leur haute toxicité (Storelli et Marcotrigiano, 2004; Linde, Sanghez Galan et Garcia Vazquez, 2004; Voegborlo, Methnani et Abedin, 1999; Murphy, Atchison et McIntosh, 1978). Elles ont révélé une contamination fréquente du thon par le Hg à des taux dépassant les taux limites réglementaires exigés par l'Union européenne, dans une proportion pouvant avoisiner 72 pour cent (Storelli et Marcotrigiano, 2004).

La plupart des études ont été réalisées sur les produits de la pêche appertisés (Lourenço *et al.*, 2004). Ces études ont conclu que les conserves de thon contenaient les taux les plus élevés en Hg, mais ces taux restaient inférieurs à la limite réglementaire de 0,5 mg/kg de l'Union européenne. Par contre, les conserves de mollusques (calamar et moule) contenaient les teneurs en Cd les plus élevées, avec 18,5 pour cent d'échantillons dépassant la limite réglementaire. Pour ce qui est du plomb, il a été détecté dans moins de 23 pour cent des échantillons, mais à des niveaux inférieurs aux limites réglementaires.

Par contre, peu d'informations sont disponibles sur l'anchois frais ou salé. Une récente étude conduite en Espagne (2006) sur l'anchois argentin (*Engraulis anchoita*) a conduit aux conclusions suivantes:

- Les teneurs en Hg et Pb relevées sur le poisson frais sont inférieures à la limite détectable et ne constituent pas un problème dans le commerce de l'anchois frais ou salé. Par contre, la teneur en Cd excède le niveau maximal tel que proposé par le règlement européen 466/2001 dans 44 pour cent des cas sans toutefois atteindre la limite de 0,3 mg/kg qui est définie pour l'espadon. À ce sujet, les auteurs de l'étude pensent que l'inclusion de l'espèce *E. anchoita* avec l'espadon dans le groupe de poisson avec une limite en Cd de 0,3 mg/kg serait une option pragmatique.
- Au cours de la maturation, la concentration en Cd augmente pendant les premiers mois puis diminue à partir du sixième mois jusqu'au douzième mois. Tenant compte d'une telle évolution, il est proposé d'appliquer un facteur de concentration de 4,5 pour toutes les espèces d'anchois transformé.

Avec ces propositions relatives au Cd et tenant compte des teneurs faibles du Hg et du Pb, il semblerait que la présence de ces métaux dans l'anchois frais et transformé ne serait pas un danger sanitaire qui peut être raisonnablement envisagé.

3.3 CONCLUSION

Les dangers sanitaires majeurs qui peuvent être raisonnablement associés à la production des semi-conserves d'anchois sont représentés par la multiplication de *C. botulinum* et la production de toxines botuliniques, la multiplication de *S. aureus* et la production d'entérotoxines, la contamination par les entérobactéries pathogènes (*E. coli* et *Salmonella*) et la formation d'histamine à des taux inacceptables.

Le glaçage précoce des anchois frais, le respect des règles d'hygiène et des bonnes pratiques de salage sont des mesures nécessaires et efficaces pour maîtriser ces dangers. Elles seront décrites en détail dans le chapitre suivant dans le cadre d'une démarche préventive HACCP appliquée aux unités d'anchoitage.

