

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Blida 1  
Faculté des Sciences de la nature et de la vie  
Département de biologie et physiologie cellulaire



## Mémoire de fin d'études

En vue de l'Obtention du Diplôme de Master 2 en Biologie  
Option : Microbiologie et Toxicologie Alimentaire

### Thème

*UTILISATION DES BIOMARQUEURS DE STRESS  
COMME INDICATEURS DE LA QUALITE DE LA  
SARDINE  
« SARDINA PILCHARDUS »*

Présenté par :

Date de soutenance : 28-10-2015

M<sup>me</sup> NAILI Hania

M<sup>me</sup> NAILI Yasmina

Devant le Jury composé de :

M<sup>me</sup> Debib.A

MCB U Blida 1

Presidente

M<sup>r</sup> Oussadou.A

MAA U Blida 1

Examineur

M<sup>me</sup> Boulkour.S

MAA U Blida 1

promotrice

M<sup>r</sup> Meknachi.A

Attaché de recherche CNRDPA

Co-promoteur

2014-2015

# REMERCIEMENTS

*Nous ne pouvons achever ce travail sans exprimer nos vifs remerciements à :*

*A Madame Boulkour .S et Monsieur Meknachi .A*

*Qui nous a fait l'honneur d'accepter de nous encadrer, de nous corriger et de nous apporter une aide précieuse au cours de l'élaboration de ce travail.  
Pour toute sa gentillesse et sa disponibilité,  
Qu'ils trouvent ici l'expression de notre reconnaissance et de notre respect le plus sincère.*

*A madame Debib*

*Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse  
Hommages respectueux,*

*A monsieur Oussadou*

*Qui a accepté de participer à notre jury de thèse et d'examiner notre travail, sa contribution nous honore.*

*A TOUT le personnel du centre national de la recherche et du développement de la pêche et de aquaculture à Bou Ismail, pour leurs judicieux conseils ayant permis le bon déroulement de notre expérimentation.*

*A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Dédicace*

*Je dédie cet évènement marquant de ma vie :*

*A celui qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la  
volonté fait toujours les grandes femmes : à ma mère*

*A celui qui me donne la force : à mon père*

*A celui qui me donne le courage : à mon mari *badre eddin**

*A mon petit chouchou *annoussa**

*A ma belle-mère et belle-sœur qui ont contribué à ma réussite.*

*A mes chers Frères et ses mari : *ilyes & souad, mohamed & hayet ,  
hamza**

*A mes sœur : *siham ,amel et hania**

*Et enfin , a tous mes collègues de la promotion de 2 ème année  
master de microbiologie et toxicologie alimentaire (2014/2015)*

*Yasmina.*

## Dédicace

*Avant tout je me prosterne devant le tout puissant Allah de m'avoir donné la force et la volanté pour réaliser ce travail.*

*Je dédie ce modeste travail avec une grand joie et fierté :*

*A la prunelle de mes yeux, celle qui m'a soutenue et qui a pleuré jour et nuit pour qu'elle me voie toujours au sommet comme une étoile. A toi ma chère **mère**.*

*A mon **père** que j'aime très fort, qui me soutien et donne les efforts à tout moment.*

*A mon cher mari : **Mohamed** qui est la source d'affection et courage.*

*Mon petit cœur : **Wail** qui est la bougie de ma vie.*

*Ma belle-mère et beau-père qui ont contribué à ma réussite.*

*Mes adorables frères ,mes charmantes sœurs et sa famille, belles sœurs sans oublier beau-frère à qui je souhaite beaucoup de bonheur et de réussite dans leur vie.*

*Avec un grand plaisir je dédie ce travail ma famille et mes amies.*

*Et vers la fin je remercie tous mes enseignants.*

*Hania*

## Résumé

Cette étude porte sur l'étude des biomarqueurs de stress et le contrôle de la qualité de *sardina pilchardus* qui provient de la baie de bou- ismail et de différents secteurs de vente par une approche physico-chimique, biochimique et microbiologique.

Le travail expérimental présente une étude de la sardine à l'état frais et l'effet de la conservation en fonction de la température et en fonction du temps (Température ambiante et de Température de réfrigération 4 C°).

Les principales analyses réalisées pour déterminer la qualité de la sardine sont, les analyses physico-chimique (biométrie, analyse sensorielle, la teneur en eau, matière minérale et organique, le pH, l'ABVT), analyses biochimiques (protéine, glucose, protéase, catalase) et analyses microbiologiques (germes mésophiles aérobie totaux, coliformes totaux et fécaux, Streptocoque, Salmonelle et Clostridium).

Dans la chair, l'ensemble des échantillons traités frais ont montré une bonne qualité sur le plan physico-chimique avec des teneurs maximales en ABVT (Azote Basique Volatil Total) ne dépasse pas 12mg/100g. Selon la norme JORA les échantillons sont conformes (inférieur à 20mg/100g), ainsi que pour les analyses biochimiques et microbiologiques ou les teneurs ne dépassent pas les valeurs seuils recommandées.

Les résultats des échantillons conservés montrent des teneurs en ABVT élevées pendant toute la durée de conservation sous l'influence des deux températures testées.

Sur le plan biochimique, le dosage de la catalase a subi de fortes augmentations dans l'activité antioxydante mesurée au niveau de chaque organe et sous l'effet des deux températures testées. Ainsi sur le plan microbiologique nous avons constaté une absence de la flore psychrophile.

Pour FAMT nous avons enregistré des valeurs maximales de 27500 UFC à 4 C° et 72000UFC à température ambiante dans la chair, tandis que dans le liquide nous avons trouvé des valeurs maximales de 73000 UFC à 4 C° et 62200UFC à la température ambiante.

**Mots clés :** *Sardina pilchardus*, qualité, biomarqueurs de stress, baie de Bou-Ismail, analyses

## Summary

This work deals with the study of stress biomarkers and quality control of *Sardina pilchardus*, originating from the Bou-Ismaïl bay and various sales territories by a physico-chemical, biochemical and microbiological approach.

The experimental work is a study of the fresh Sardine and the conservation effect depending on temperature and time (ambient temperature and 4 ° C refrigeration temperature).

The main analysis used to determine the quality of sardine are physicochemical analyzes (biometrics, sensory analysis, water content, mineral and organic matter, pH, TVB-N), biochemical analyzes (protein, glucose, protease, catalase) and microbiological analyzes (total aerobic mesophilic, total and fecal coliforms, Streptococcus, Salmonella and Clostridium).

Concerning the flesh, fresh samples showed good quality on the physicochemical plan with maximum levels of TVB-N (Total Volatile Basic Nitrogen) does not exceed 12mg / 100g. According to standard JORA samples are compliant (lower than 20 mg / 100 g) and for biochemical and bacteriological analyzes or the contents do not exceed the recommended threshold values.

The results of stored samples show high levels of TVB throughout the shelf life under the influence of the two temperatures tested.

Biochemically, the assay of catalase has undergone large increases in the antioxidant activity measured at each element and under the effect of the two temperatures tested. Thus bacteriologically we have seen a lack of psychrophilic flora. For FAMT we recorded the maximum values of 2750 CFU at 4 C ° and 7200 CFU at room temperature in the flesh, while in the liquid we found maximum values of 7300 CFU to 4 C ° and 6220 CFU at room temperature.

**Key words :** *Sardina pilchardus*, quality, stress biomarkers , Bou-Ismaïl bay , analysis.

## ملخص

يتناول هذا العمل دراسة المؤشرات التوتري الحيوية ومراقبة نوعية السمك *sardina pilchardus*، المستمد من خليج بوسماعيل ومختلف مناطق بيع الأسماك بإجراء تحاليل فيزيوكيميائية، بيوكيميائية و ميكروبيولوجية.

العمل التجريبي هو دراسة السردين الطازج وملاحظة تأثير الحفظ الذي يرتكز على درجة الحرارة والوقت (درجة الحرارة المحيطة ودرجة حرارة التبريد)

التحليلات الأساسية المستعملة لتحديد نوعية السردين هي تحاليل فيزيائية (القياسات الحيوية، التحليل الحسي، ومحتوى المياه والمعادن والمواد العضوية، ودرجة الحموضة، الأزوت الكلي القاعدي الطيار)، تحاليل بيوكيميائية (البروتين والجلوكوز، الأنزيم البروتيني، الكاتالاز) تحاليل وميكروبيولوجية (germes mésophiles aérobie totaux, ) (coliformes totaux , fécaux Streptocoque, Salmonelle et Clostridium

فيما يتعلق بالأنسجة العضلية، أظهرت العينات الطازجة نوعية جيدة على المستوى الفيزيوكيميائي، فقد سجلت بها قيم قصوى من الأزوت القاعدي لا تتجاوز 12 مغ/100غ. العينات تتوافق مع مقاييس جورا (أقل من 20 ملغ / 100 غ) والتحليلات الكيميائية الحيوية والبكتريولوجية والمحتويات لا تتجاوز القيم الحدية الموصى بها.

نائج العينات المخزنة تبين وجود مستويات عالية من الأزوت القاعدي طوال فترة الحياة تحت تأثير درجتي الحرارة المختبرة.

على المستوى البيوكيميائي، شهد فحص الكاتالاز زيادات كبيرة تحت تأثير النشاط المضاد للأوكسدة المقاس في كل عضو وتحت درجتي الحرارة المختبرة. على المستوى الميكروبيولوجي لوحظ عدم وجود بكتيريا المحبة للبرودة. بالنسبة لـ FAMT سجلنا قيم قصوى 2750 وحدة مكونة للبقع البكتيرية في 4°مئوية و7200 وحدة مكونة للبقع البكتيرية في درجة حرارة الغرفة في النسيج العضلي، بينما في السائل وجدنا القيم القصوى 7300 من وحدة مكونة للبقع البكتيرية في 4° C و6220 وحدة مكونة للبقع البكتيرية في درجة حرارة الغرفة.

الكلمات المفتاحية: خليج بوسماعيل ؛ تحاليل ؛ نوعية السردين ؛ *Sardina pilchardus*

# ABREVIATIONS

## Liste des Abréviations

|         |  |
|---------|--|
| ABVT    | Azote basique volatil total  |
| CAF     | Calcium activated factor   |
| CAT     | Catalase   |
| CF      | Coliforme fécaux   |
| CNRDPA  | Centre national de recherche et de développement de la pêche et de l'aquaculture |
| CT      | Coliformes totaux  |
| DMA     | Diméthylamine  |
| DNS     | Acide di-nitrosalicylique  |
| FAMT    | Flore aérobie mésophile totale   |
| IA      | Indice d'altération  |
| IFERMER | Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer                     |
| Indé    | Indénombrable  |
| JORA    | Journal officiel Algérien  |
| NADH    | Nicotinamide adénine dinucléotide (forme réduite)                                |
| NADPH   | Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (forme réduite)                      |
| NH3     | l'ammoniac   |
| NPP     | Nombre plus probable   |
| OGA     | Gélose glucosée à l'oxytétracycline  |
| OMS     | Organisation mondiale de la santé  |
| OTMA    | Oxyde de triméthylamine  |
| p/v     | Poids /volume  |
| PCA     | Plate Count Agar   |
| PCB     | Polychlorobiphényles   |



## ABREVIATIONS

---

---

|                     |                                |
|---------------------|--------------------------------|
| PCB :               | Polychlorobiphényles           |
| <i>S.pilchardus</i> | <i>sardina pilchardus</i>      |
| S/C                 | Simple concentration           |
| S9                  | Surnageant                     |
| SAB                 | Sérum albumine bovine          |
| TMA                 | Triméthylamine                 |
| TSE                 | Tryptone Sel Eau               |
| U                   | L'unité d'activité enzymatique |
| UFC                 | Unité Formant Colonies         |

## LISTES DES TABLEAUX

|               |  |          |
|---------------|--|----------|
| Tableau I     | Tailles minimales marchandes des principales espèces des petits Pélagiques. (MPRH, 2004) | 13       |
| Tableau II    | résultats de calculs de l'indice d'altération de la sardine                              | 33       |
| Tableau III   | composition chimique des échantillons de sardine   | 34       |
| Tableau IV    | composition biochimique des échantillons de sardine                                      | 37       |
| Tableau V     | Résultat du dosage de la protéase  | 38       |
| Tableau VI    | Résultats des analyses microbiologiques de la sardine                                    | 40       |
| Tableau VII   | Résultats du dosage de glucose durant la période de conservation pour E4                 | 49       |
| Tableau VIII  | Résultats du dosage de protéine durant la période de conservation pour E4                | 49       |
| Tableau VIII  | Résultats du dosage de glucose durant la période de conservation pour E5                 | 50       |
| Tableau X     | Résultats du dosage de protéine durant la période de conservation pour E5                | 51       |
| Tableau IX    | Avantages de l'utilisation des poissons Vindimian E., Garric J., 1993.                   | annexe A |
| Tableau IIX   | Composition proximale d'une portion de sardine ( <i>Santé Canada, 2005</i> )             | annexe A |
| Tableau IIIX  | Barème de cotation chiffre   | Annexe A |
| Tableau IIIIX | Les normes d'ABVT  | annexe A |

## LISTES DES FIGURES

|              |  |          |
|--------------|--|----------|
| Figure 1     | <i>Sardina pilchardus</i> Walb   | 3        |
| Figure 2     | Signes d'altération de la sardine (branchie)   | 7        |
| Figure 3     | Représentation graphique de l'ordre séquentiel des réponses à un stress au sein d'un système biologique. | 15       |
| Figure4      | poissons entiers conservés à température ambiante et au réfrigérateur.                                   | 20       |
| Figure 5     | plan adoptée avec les différentes démarches appliquées   | 20       |
| Figure 6     | Procédures expérimentales (dosages biochimiques)   | 23       |
| Figure7      | Dénombrement de la flore aérobique mésophile totale (FAMT )  | Annexe E |
| Figure 8     | Préparation des tubes avec de gélose viande – foie   | Annexe E |
| Figure 9     | Dénombrement des Coliformes, Test de présomption   | Annexe E |
| Planche n °1 | Aspect extérieur de la sardine pendant la conservation   | 42       |
| Figure10     | Evolution de la teneur en eau en fonction de la durée de conservation pour E4 et E5                      | 44       |
| Figure 11    | Variation du pH des échantillons conservés à température ambiante et à 4°C pour E4 et E5                 | 45       |
| Figure 12    | Evolution des teneurs en ABVT durant la période de conservation  | 46       |
| Figure13     | Résultats du dosage des protéines/ catalase durant la période de conservation pour E4                    | 51       |
| Figure 14    | Résultats du dosage des protéines/ catalase durant la période de conservation pour E5                    | 52       |
| Figure15     | Résultat des analyses microbiologique durant la période de conservation pour E4                          | 55       |
| Figure16     | Résultat des analyses microbiologique durant la période de conservation pour E5                          | 56       |
| Figure 17    | Positionnement des stations artificielles (port de pêche bouharoune).                                    | Annexe B |
| Figure 18    | port de bouharoune   | Annexe B |

# Sommaire

## CHAPITRE I REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

|                     |   |    |
|---------------------|---|----|
| <b>Introduction</b> |   | 1  |
|                     | Généralités sur <i>Sardina pilchardus</i>             | 3  |
| 1.                  | Aspect biologique de <i>Sardina pilchardus</i>        | 3  |
| 1.1.                | Présentation et classification                        | 5  |
| 1.2.                | Reproduction  | 4  |
| 1.6.                | Composition Chimique de la chair de poisson           | 5  |
| 2.                  | Consommation de <i>Sardina pilchardus</i>             | 5  |
| 2.1.                | Capture de la sardine en Algérie                      | 5  |
| 2.2.                | Intérêt nutritionnel de la sardine                    | 6  |
| 2.3.                | Altération de la sardine                              | 7  |
| 3.                  | Méthodes d'évaluation de qualité sanitaire de sardine | 8  |
| 4.                  | Généralités microbiologiques                          | 11 |
| 4.1.                | Coliformes totaux                                     | 11 |
| 4.2.                | Les Coliformes fécaux                                 | 11 |
| 4.3.                | Streptocoques fécaux                                  | 11 |
| 4.3.                | Salmonelles   | 12 |
| 4.4.                | Clostridium sulfito-réducteurs                        | 12 |
| 4.5.                | Levure et moisissure                                  | 12 |
| 5.                  | bio-marqueurs ; bio-indicateur: notions et concepts   | 13 |
| 5.1.                | Définition et intérêts biologiques                    | 13 |
| 5.2.                | Classification des biomarqueurs                       | 13 |
| 5.3.                | Indicateurs biologiques (Bio-indicateurs)             | 14 |
| 6.                  | Stress oxydant .                                      | 15 |
| 6.1.                | Définition du stress oxydant                          | 15 |
| 6.2.                | Mécanismes pro oxydants                               | 15 |
| 6.3.                | Mécanismes anti-oxydants                              | 17 |
| 7                   | Généralités sur la pêche.                             | 18 |

## CHAPITRE II MATERIEL ET METHODES

|      |   |    |
|------|---|----|
| 1.   | Période et lieu de stage  | 19 |
| 2.   | Echantillonnage et conditionnement  | 19 |
| 3.   | La répartition des échantillons selon le mode de conservation                                 | 20 |
| A.   | Analyse sensorielle   | 21 |
| B.   | Analyses physico-chimiques  | 21 |
| B.1. | La teneur en eau  | 21 |
| B.2. | Matière minérale et organique   | 21 |
| B.3. | Teneur en azote basique volatil total (ABVT)  | 22 |
| B.4. | Détermination du pH   | 22 |
| C.   | Analyse biochimique   | 22 |
| C.1. | Dosage du Glucose par la méthode DNS  | 24 |
| C.2. | Dosages des protéines par la méthode de Lowry   | 25 |
| C.3. | Dosages de la Catalase par mode Cinétique (dans la chair , l'intestin le foie ,les branchies) | 26 |
| C.4. | Dosage de la protéase dans l'intestin   | 26 |

|   |   |    |
|---|---|----|
| D.  | Analyses microbiologiques   | 27 |
| D.1.  | Numération de la flore aérobie mésophile totale                     | 27 |
| D.2.  | Numération de levures et moisissure                                 | 28 |
| D.3   | Numération des Streptocoques fécaux                                 | 28 |
| D.4   | Numération des Clostridium sulfito-réducteurs                       | 29 |
| D.5.  | Numération des coliformes totaux                                    | 29 |
| D.6.  | Numération des coliformes fécaux ou thermotolérants                 | 30 |
| D.7.  | II.D.7.Recherche des salmonelles                                    | 30 |
| <b>CHAPITRE III RESULTATS ET DISCUSSION</b> |   |    |
| A.  | Résultats de la première série de contrôle                          | 32 |
| A.1.  | Résultats des analyses sensoriels (qualité organoleptique)          | 32 |
| 2A.2.                                       | Résultats des analyses physico-chimiques                            | 33 |
| A. 3.                                       | Résultats des analyses biochimiques                                 | 36 |
| A.4.  | Résultats des analyses microbiologiques                             | 38 |
| B.  | Résultats de la deuxième série d'expérience (teste de conservation) | 41 |
| B.1.  | Analyses sensorielles   | 41 |
| B.2.  | Analyses physico-chimiques  | 44 |
| B.3.  | Résultats des analyses biochimiques                                 | 47 |
| B.4.  | Résultats des analyses microbiologiques                             | 55 |
| <b>Discussion</b>                           |   | 57 |
| <b>Conclusion</b>                           |   | 59 |
| <b>Référence Bibliographique</b>            |   |    |

# **INTRODUCTION**

### Introduction

Les produits de la mer sont considérés comme des aliments de haute valeur nutritionnelle. Grâce à leur composition particulière, ils sont jugés meilleurs pour la santé comparés à de la viande rouge. Le terme de poisson recouvre une très grande diversité d'espèces, qui partagent des caractéristiques communes: des protéines de haute valeur biologique dont la teneur est comparable à celle des autres produits carnés, une richesse exceptionnelle en acides gras longs polyinsaturés (A.G.P.I.) de la série n-3 et des minéraux et oligo-éléments particuliers(phosphore, sélénium et iode) (**Medale, 2005**).

Différents risques sont liés à chacune des espèces et peuvent en influencer la qualité et la sécurité du consommateur. L'amélioration de la qualité des produits de la pêche et de l'aquaculture est devenue une préoccupation majeure des pouvoirs publics et de tous les acteurs opérant dans ce domaine. La demande des consommateurs a conduit à la mise en place de nouveaux procédés, comme le traitement minimal des produits et la production d'aliments prêts à l'emploi. Une profonde connaissance de la composition du poisson et des modifications qui surviennent lors de la manipulation, de la transformation et du stockage est un élément essentiel dans la prise de décisions concernant les méthodologies à mettre en place pour l'évaluation de la qualité et de la sécurité. En effet, les produits de la pêche subissent une dégradation naturelle post mortem, résultante de réactions endogènes et exogènes. Ces dernières sont de natures chimiques, enzymatiques et microbiologiques (**Koutsoumanis et al ., 2002**).

La fraîcheur étant le paramètre déterminant de la qualité sanitaire du poisson son évolution objective est essentielle, dans ce contexte le travail de ce manuscrit porte sur la mise en place d'un outil performant pour déterminer la qualité de la sardine de manière fiable et objective dès les premiers stades d'altérations.

Ainsi, le manuscrit comporte trois chapitre .le premier est consacrée à une présentation bibliographique sur la sardine et les biomarqueurs de stresse. Les techniques et méthodologies utilisées pour la réalisation de ce travail sont décrites dans le second chapitre. Les résultats obtenus ainsi que leur discussion seront présentés dans le troisième chapitre.

La conclusion du travail réalisé ainsi que les perspectives qui en découlent clôturent ce manuscrit.

**REVUE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

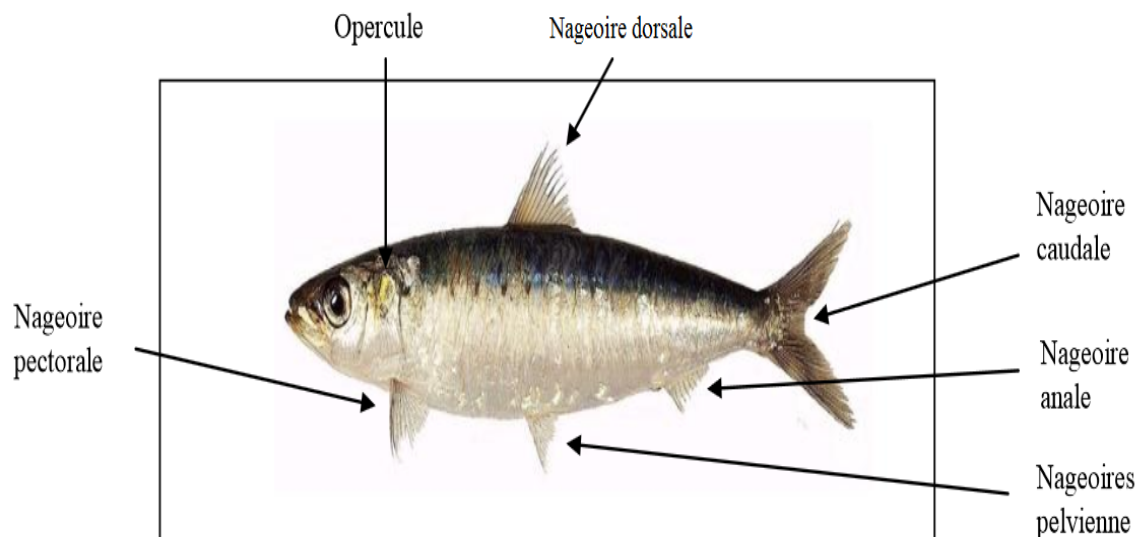


## I.Généralités sur *Sardina pilchardus*

### I.1.Aspect biologique de *Sardina pilchardus*

#### I.1.1.Présentation et classification

*Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792), communément appelée sardine, est un petit poisson de forme fusiforme et allongée dont la taille moyenne est de 10 à 20 cm avec un maximum de 25 cm. De couleur bleu sombre sur le dos avec des reflets verdâtres, argentée sur les flancs (Figure 1) et blanc au niveau du ventre, sa peau est revêtue d'écailles. La sardine présente un opercule strié marqué, qui porte une tache noire suivie de plusieurs autres sur son dos, présentes selon son état de fraîcheur (Fisher et al., 1987 ; Brahimi et al., 1993). Sous chaque opercule se trouvent quatre branchies (organes respiratoires) qui permettent l'échange gazeux entre le milieu aquatique et le sang.



**Figure 1** : *Sardina pilchardus* Walb.

La position actuelle de *Sardina pilchardus* dans la classification phylogénétique des ostéichthyens est donnée par **Lecointre et le Guyader, (2001)** :

- Embranchement : Vertébrés
- Sous-embranchement : Gnathostomes
- Superclasse : Poissons
- Classe : Ostéichthyens
- Sous-classe : Actinoptérygiens
- Superordre : Téléostéens
- Ordre : Clupéiformes
- Sous-ordre : Clupéoidés
- Famille : Clupéidé
- Genre : *Sardina*
- Espèce : *S. pilchardus* (**Walbaum, 1792**)

Il existe deux sous-espèces de sardine : *Sardina pilchardus sardina*, présente dans le bassin méditerranéen, et *Sardina pilchardus pilchardus* caractéristique de l'Atlantique (**Biseau, 2006**). La distinction entre les deux sous-espèces se base, entre autres, sur la tâche noire présente sur l'opercule et les deux derniers rayons de la nageoire anale qui sont plus allongés que les autres chez *Sardina pilchardus*.

### **I.1.3. Reproduction**

Espèce gonochorique. Sa production se fait par fécondation externe (**Bonnefiset al., 2010**)

- Chez les mâles : les gonades prennent la forme d'une lame de couteau de couleur : rose blanchâtre
- Chez les femelle : les gonades sont en forme de sac de couleur jaune-orangée et pour les deux sexes, les gonades est très vascularisé (**Diop, 2008**).

D'après **Mouhoub (1986)**, la période de ponte de la sardine méditerranéenne est située en hiver, de novembre à février. La ponte s'effectue dans les limites de températures allant de 14 à 15°C (**Djabali et Mouhoub, 1989**). Une femelle peut pondre jusqu'à 60 000 œufs pélagiques qui flottent entre 10 et 70 m, éclosent 2 à 4 jours après la ponte et donnent naissance à une larve de 4 mm de long.

Celle-ci aboutira à une sardine juvénile au bout de 12 jours et retournera près des côtes pour y rester jusqu'au début de l'hiver (**Biseau, 2006**).

### **I.1.7. Composition Chimique de la chair de poisson**

La chair des poissons contient en moyenne 70 à 80 % d'eau, 16 à 22 % de protéines, peu de glycogène (moins de 1% en général) et des lipides en quantité très variable (1 à 20 % selon les espèces et leur alimentation) (**Karakoltsidis et al .,1995**). Ces qualités nutritionnelles ne seront que brièvement résumées. Malgré la très large variété taxonomique des poissons, la teneur en protéines des tissus musculaires est d'une constance remarquable (**Pérez-Villareal et Pozo, 1990 ; Medale, 2005**). ).

La sardine est l'un des six poissons les plus riches en acides gras eicosapentaénoïque (EPA) et d'acide docosahexaénoïque (DHA),

Il est bon de noter que le contenu en lipides et en acides gras (n-3) de la sardine varie considérablement selon la saison(**Macciola, 2004**).

## **I.2. Consommation de *Sardina pilchardus***

### **I.2.1. Capture de la sardine en Algérie**

La pêche à la sardine est une activité fortement influencée par les conditions hydrologiques. En effet, la température agit directement sur les migrations ainsi que sur l'importance et la localisation des concentrations de sardines et donc sur leur accessibilité aux flottilles de pêche (**Forest, 2001**).

La marge continentale de l'Algérie recèle des ressources halieutiques non négligeables. Pour l'année 2013, le port d'Alger a compté une production de 3 634 787 tonnes de poissons, dont 949 665 tonnes représentent la production de *Sardina pilchardus* (**DPRH, 2014**).

Par ailleurs, depuis juillet 2004, sont prohibés la capture, le transport et la commercialisation des espèces n'ayant pas atteint la taille minimale marchande (décret exécutif n°04-188). Cette réglementation est indispensable pour empêcher la capture des individus immatures, éviter la surexploitation des stocks et assurer la pérennité de la ressource.

### **I.2.2. Intérêt nutritionnel de la sardine**

Parmi les 12000 espèces de poissons, la sardine est l'un des plus consommés, et l'un des plus méconnus, car ses qualités sont masquées par l'image de la boîte de sardine.

Elle a ainsi été classée parmi les 11 espèces de poisson possédant les meilleures recommandations nutritionnelles par la société américaine du cœur (American Heart Association) (**Sidhu, 2003**)

Parmi les vertus nutritionnelles de la sardine, l'une des principales, est la présence de lipides particuliers : les acides gras de la famille des omégas 3, dont les propriétés vasculoprotectrices sont maintenant bien établies.

Le poisson exerce un effet cardioprotecteur spécifique pour des doses relativement modestes : 30g en moyen par jour soit 2 repas de poisson par semaine.

C'est une excellente source d'acide eicosapentaénoïque (AEP) et d'acide docosahexaénoïque (ADH), deux acides gras de la famille des oméga-3 qui représentent 20 à 30% des acides gras totaux de la sardine. Ces acides gras agissent comme précurseurs de messagers chimiques favorisant un bon fonctionnement des systèmes immunitaire, circulatoire et hormonal (**Koning et Mol, 1991 et Dumay, 2006**). **L'AFSSA (2003)** recommande un apport alimentaire en acides gras insaturés environ 3 fois supérieur à celui en acides gras saturés. Un rapport de la FAO reconnaît comme essentiels dans l'alimentation humaine les acides gras insaturés oméga-3 et 6 (**WHO/FAO, 1977**), du fait que les êtres supérieurs sont incapables de synthétiser leurs précurseurs et la synthèse de leurs dérivés est insuffisante (**Dumay, 2006**)

En effet c'est l'un des poissons les plus riches en protéines. La bonne répartition en acides aminés indispensables explique que 150g de sardine suffisent à couvrir 100% des besoins quotidiens ; quant aux glucides, ils sont quasiment inexistant leur teneur étant de 0.1g/100g. La valeur calorique de la sardine fraîche qui est de 170kcal pour 100g est proche de celle des viandes. De plus les acides gras d'origine marine entraîneraient une prolifération moindre du tissu adipeux. (**Koning et H Mol, 1991**).

Comme pour les acides aminés, une portion de 150 g couvre les besoins journaliers en vitamines D et E et apporte une quantité intéressante de vitamine A. Elle contient peu de sodium mais est riche en calcium, magnésium et potassium, et constitue un excellent apport de zinc et d'iode. Avec toutes ces qualités, la sardine est un aliment hypocalorique (170 kcal pour 100g) pouvant être intégrée dans la plupart des régimes alimentaires (**Koning et H Mol, 1991**).

### I.2.3. Altération de la sardine

Le poisson frais est un aliment très périssable. Sa détérioration progresse rapidement après la pêche. Sous les températures ambiantes des Tropiques, le poisson s'altère en moins de 12 heures. Cependant, de bonnes techniques de pêche (qui abîment très peu le poisson) et la réfrigération, au moyen de glace sur le bateau, permettent de prolonger la durée de conservation du poisson frais (FAO, 2009).

Les caractéristiques d'une sardine avariée par rapport à une sardine fraîche sont les suivantes: une chair molle avec traces de sang de couleur brune, au lieu de chair ferme avec sang rouge, des pupilles rouges laiteuses, au lieu de pupilles claires, une colonne se détache facilement, au lieu d'une colonne se brise, une odeur forte, des branchies rouge foncé et visqueuses (Figure 2), au lieu de branchies rouge vif (Berkel et al., 2004; FAO, 2009).



**Figure 2** : Signes d'altération de la sardine (branchie).

Mise à part les altérations physiques visibles, la sardine, comme beaucoup d'organismes marins, est vectrice de microorganismes pathogènes (bactéries, parasites...) et est un réservoir de nombreux contaminants chimiques: PCB, dioxines mais aussi métaux lourds, principalement le mercure, l'arsenic, le cadmium et le plomb (FAO, 2009).

Pour cela, un contrôle rigoureux des taux de ces contaminants est imposé. En Algérie, les doses de mercure, méthylmercure, cadmium et de plomb autorisées dans les organismes marins et la sardine sont fixées par l'arrêté interministériel 5 janvier 2011 fixant les seuils limites de présence de contaminants chimiques, microbiologiques et toxicologiques dans les produits de la pêche et de l'aquaculture .

*Sardina pilchardus* fait d'ailleurs partie des espèces préconisées par le MEDPOL (Unep, 1993) pour le suivi des contaminants chimiques dans les organismes marins.

### **I.3. Méthodes d'évaluation de qualité sanitaire de sardine**

Dans la plupart du temps le mot de la qualité se réfère à l'aspect esthétique et à la fraîcheur ou au degré de l'altération que la sardine a subit. D'après la F.A.O. (2003), la qualité englobe tout un ensemble de notions, telles que la sécurité, la nutrition, la pureté, la régularité des produits, la valeur ou l'excellence des produits, la loyauté (étiquetage par exemple) et la gastronomie. Les méthodes d'évaluation de la qualité des sardines se divisent en deux types à savoir les méthodes sensorielles et instrumentales (FAO, 2003).

#### **A. Méthodes sensorielles**

Selon la F.A.O. (1999) l'évaluation sensorielle est définie comme la discipline scientifique utilisée pour évoquer, mesurer, analyser et interpréter les réactions aux caractéristiques des aliments perçues par le sens de la vue, l'odeur, le goût, le toucher, et l'ouïe. Dans l'analyse sensorielle, l'aspect, l'odeur, la flaveur, la texture, peuvent être seulement mesurés par les sens de l'homme de manière subjective.

Cette analyse est un test affectif fondé sur une mesure de préférence ou d'acceptation. Or, les tests analytiques objectifs, regroupent deux aspects à savoir les tests discriminatifs qui nous font part de l'existence de différences entre l'échantillon (test triangulaire par exemple) et les tests descriptifs qui nous renseignent sur la nature et l'intensité des différences entre les échantillons (F.A.O.,1999).

#### **B. Méthodes physiques**

Ce type d'évaluation mécanique, permet d'effectuer rapidement et facilement des mesures de routines sans endommager les pièces à analyser. Par ailleurs, cette méthode nécessite un équipement spécifique et coûteux pour chaque paramètre à analyser.

Le plus souvent, la conductivité électrique et la texture de la chair du produit présente les principaux paramètres à analyser. La conductivité électrique du muscle du poisson diminue avec le temps de conservation (**Samuel et al., 2002**).

La texture (dureté/ ramollissement) de la chair de poisson est mesurée par une technique appelée déformabilité par compression (**Huss, 1999**).

### **C. Méthodes chimiques et biochimiques**

Bien que l'analyse sensorielle demeure le test le plus utilisé pour évaluer la fraîcheur des produits de pêche, les dosages chimiques sont très présents en recherche pour appuyer et expliquer les résultats de l'évaluation sensorielle (**Samuel et al, 2002**).

Ceci permet ainsi aux scientifiques, d'établir les normes de qualité et des seuils de tolérance pour des indicateurs chimiques d'altération. Parmi ces composés chimiques on trouve les amines basiques volatiles totales (A.B.V.T), les amines biogènes ou histamine et les produits d'oxydation de lipides de poisson tels que les hydroperoxydes (produits primaires) et les TBARS (sr-TBA : produits secondaires de l'oxydation lipidique). De plus, les méthodes biochimiques et chimiques permettent de remplacer les méthodes bactériologiques plus lentes (**Huss, 1999**). De telles méthodes objectives doivent cependant être en corrélation avec les évaluations sensorielles de qualité et les composés chimiques à mesurer doivent augmenter ou diminuer avec le niveau d'altération microbienne ou d'autolyse. Il est également important que les composés à mesurer ne soient pas affectés par le traitement (par exemple rupture des amines ou nucléotides dans le processus des conserveries du fait de la stérilisation à haute température).

Le dosage des amines basiques volatiles totales (ABVT, encore appelé azote basique volatil total) est un dosage largement utilisé pour évaluer la qualité des produits de la mer. C'est un terme général qui comprend la détermination de la triméthylamine (produite par les bactéries d'altération), la diméthylamine (produite par les enzymes autolytiques pendant le stockage du poisson congelé), l'ammoniac (produite par la désamination des acides aminés et des catabolites de nucléotides) et d'autres composés azotés volatils basiques associés à l'altération des produits de la mer.

### **Ammoniac**

L'ammoniac est formé par la dégradation bactérienne ou désamination des protéines, peptides et acides aminés. Elle est produite aussi pendant l'altération autolytique de l'adénosine monophosphate (AMP, Figure 5.4) dans les produits de la mer glacés. Bien que l'ammoniac ait été détecté comme composant volatil dans de nombreux poissons altérés, peu d'études l'ont quantifié, du fait qu'il était impossible de déterminer sa contribution relative à l'accroissement général des bases volatiles totales.

### **Triméthylamine (TMA)**

La triméthylamine est une amine volatile à odeur forte souvent associée à l'odeur typique "douteuse" de produit de la mer qui se dégrade. Sa présence dans le poisson en cours d'altération est due à la réduction bactérienne de l'oxyde de triméthylamine (OTMA) qui est naturellement présent dans le tissu vivant de plusieurs espèces de poissons marins.

### **Amines biogènes**

Le muscle du poisson possède la capacité de favoriser la formation bactérienne d'une large variété de composés aminés qui proviennent de la décarboxylation directe d'acides aminés. La plupart des bactéries d'altération possédant une activité décarboxylase agissent ainsi, en réaction au pH acide pour l'augmenter par production d'amines

### **D. Méthodes microbiologiques**

Les examens microbiologiques des produits de la pêches sont réalisés afin d'évaluer la présence de bactérie ou d'organismes pouvant avoir des conséquences néfastes sur la santé publique. Les examens bactériologiques traditionnels sont complexes, longs et couteux. Ils concernent souvent le dénombrement de bactéries spécifiques d'altération (**Huss, 1999**). En général, les données microbiologiques ne fournissent pas d'informations suffisantes et précises sur l'appétence ou la fraîcheur du produit. La flore bactérienne totale du poisson indique rarement la qualité sensorielle ou le comportement attendu lors du stockage (**Huss et al., 1974**).



## **I.4. Généralités microbiologique**

### **I.4.1. Coliformes totaux :**

Le terme Coliforme correspond à des organismes en bâtonnets, non sporogènes, à coloration de Gram négatif, oxydase négative, aérobies anaérobies facultativement, capables de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaires, et capables de fermenter le avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 heures, à des températures de 35° à 37 °C (**Delarras ,2003**)

### **I.4.2. Les Coliformes thermotolérants :**

Les Coliformes fécaux ou Coliformes thermotolérants, sont un sous-groupe des Coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de lactose à une température de 44,5°C.

L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia coli* (*E.coli*) et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klasiella*. La bactérie *E.coli* représente toutefois 80 à 90 % des Coliformes thermotolérants détectés. Bien que la présence de Coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale. Plusieurs Coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale, provenant plutôt d'eaux enrichies en matières organiques tels les effluents industriels du secteur des pâtes et papier, ou de la transformation alimentaire (**OMS, 2000**).

C'est pourquoi, il serait plus approprié d'utiliser le terme générique Coliformes thermotolérants plutôt que celui de Coliformes fécaux. L'intérêt de la détection de ces Coliformes, à titre d'organismes indicateurs, réside dans le fait que leur survie dans l'environnement est généralement proportionnelle au degré de pollution produite par les matières fécales.

### **I.4.3. Streptocoques fécaux :**

Les Streptocoques fécaux sont des cocci Gram positif groupés typiquement en chaînettes plus au moins longues. Ce sont des germes anaérobies facultatifs, généralement micro aérophiles et très exigeants au point de vue nutritionnel. Ils se développent bien à 37°C. Ce sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud (**Bourgeois et al., 1991**)

**1.4.3. *Salmonelles* :**

Les Salmonelles appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae, se présentent sous la forme de bâtonnets gram négatifs, lactose négatif et oxydase négatif mais catalase positif. Les Salmonelles vivent dans les excréments, l'air humide, les eaux d'égouts et les eaux superficielles **(bourgeois et al., 1991)**

**1.4.4. *Clostridium sulfito-réducteurs* :**

Membre de la famille des bacillaceae, gros bacilles à gram positif, anaérobies strictes et sporulés, mobiles par ciliature péritriche, mais parfois immobiles et capsulés, les spores sont ovoïdes ou sphériques, naturellement thermorésistants, catalase négatif **(Gelinas 1995; Afnor, 1992)**.

**1.4.5. *Levure et moisissure* :**

Ce sont des germes d'altération : on peut les rechercher pour évaluer l'état d'avancement de l'altération du produit **(Jeant et al, 2006)**.

## **I.5. Les bio-marqueurs ; bio-indicateur: notions et concepts**

### **I.5.1. Définition et intérêts biologiques**

Plusieurs définitions ont été données au terme “biomarqueur”. Ce terme est généralement utilisé dans un sens très large, incluant quasiment toutes les mesures reflétant une interaction entre un système biologique et un danger potentiel ; ce danger pouvant être chimique, physique, ou biologique (**WHO, 1993**).

La définition ayant été retenue par **Lagadic et al., 1997** est la suivante :

Un biomarqueur est un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant. Ce changement peut alors être associé à l'exposition en elle-même, aux effets toxiques ou à la sensibilité vis-à-vis du contaminant environnemental.

Des expériences en conditions contrôlées ont montré l'intérêt des biomarqueurs pour évaluer l'exposition des individus à des xénobiotiques (**Lagadic et al., 1998 ; Almeida et al., 2002 ; Ana Rosa, 2008**) conduisant à proposer de les utiliser dans les programmes de surveillance de la qualité de l'environnement. L'avantage du biomarqueur dans le suivi de la qualité de l'environnement est qu'il reflète la biodisponibilité, à la fois des molécules-mères et des produits de dégradation (**Alain, 2001**).

### **I.5.2. Classification des biomarqueurs**

Il est classique, en écotoxicologie, de distinguer trois types de biomarqueurs :

Les biomarqueurs d'exposition à un xénobiotique, les biomarqueurs d'effet de l'exposition et les biomarqueurs de sensibilité aux effets provoqués par l'exposition (**Lagadic et al., 1997 ; Ron et al., 2003**).

Les biomarqueurs d'exposition indiquent que le polluant présent dans le milieu a pénétré dans l'organisme. Généralement, les biomarqueurs d'exposition sont le résultat de l'interaction du polluant avec des molécules biologiques dans des tissus et/ou dans des liquides corporels (métabolites spécifiques de la conjugaison au glutathion, adduits à l'ADN, etc. (**Lagadic et al., 1997**). Dans ce cas, leur suivi consiste en la détection au sein d'un individu de métabolites issus de la métabolisation du xénobiotique ou de produits issus de son interaction avec certaines biomolécules ou cellules cibles (**Barillet, 2007**).

L'utilisation des biomarqueurs d'effet permet de montrer que le xénobiotique est entré dans l'organisme et, qu'après avoir été distribué entre les différents tissus, a exercé un effet toxique sur une cible critique (**Lagadic et al. , 1997**).

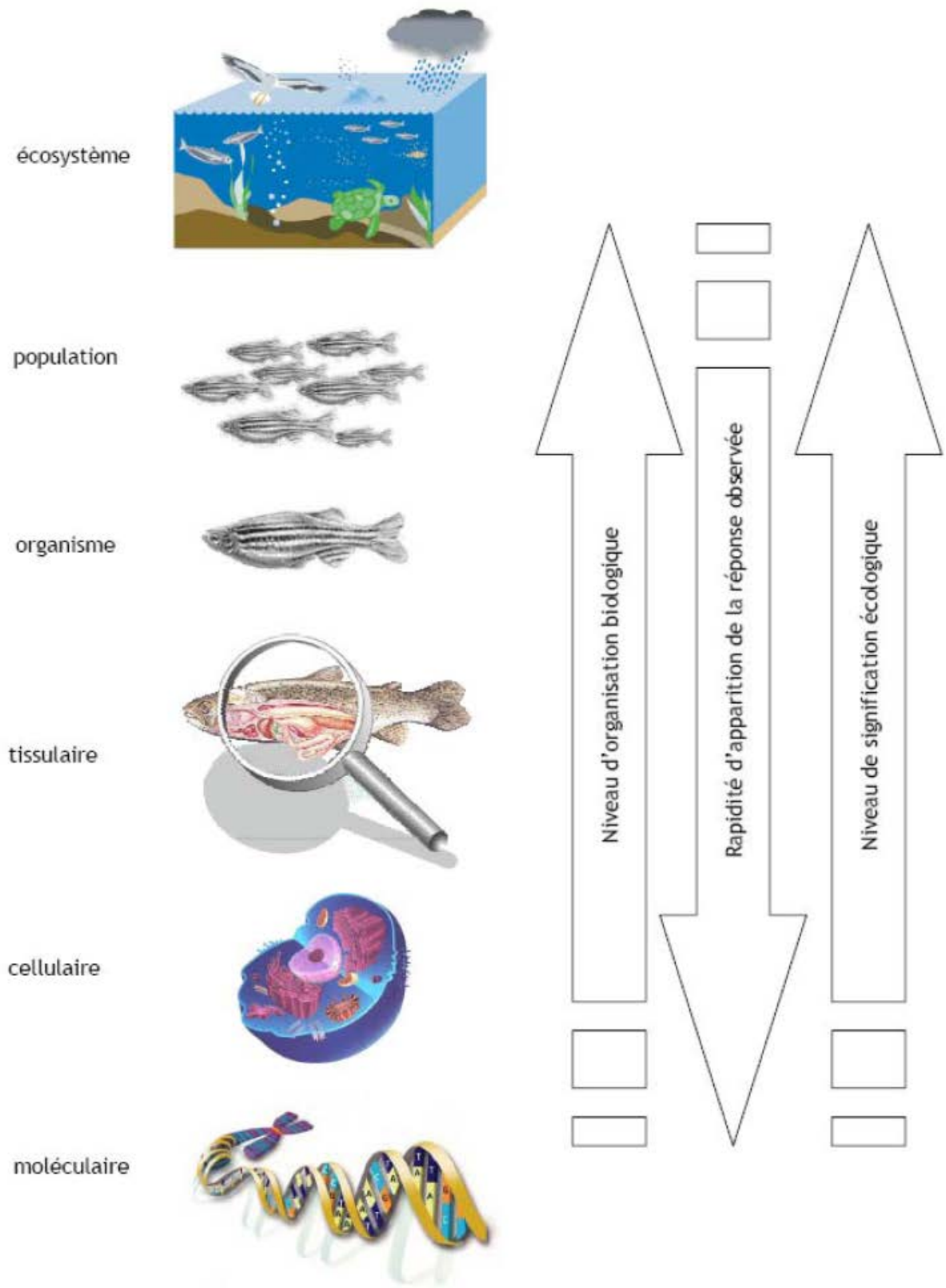
Les biomarqueurs de sensibilité indiquent quant à eux la capacité inhérente ou acquise d'un organisme à répondre au stress induit par l'exposition à un xénobiotique. Cette catégorie de biomarqueurs peut donc notamment inclure des facteurs génétiques (**Lagadic et al. ,1997**).

### **I.5.3. Indicateurs biologiques (Bio-indicateurs)**

Selon **Blandin(1986)** un indicateur biologique (ou bio-indicateur) est un organisme ou un ensemble d'organismes qui par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques permet, de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème ou d'un éco complexe et de mettre en évidence aussi précocement que possible leurs modifications naturelles ou provoquées. **Lagadic et al., 1998** préconisent d'utiliser comme définition celle de Guelorget et Perthuisot, qui considèrent que les bio indicateurs sont « des espèces ou groupe d'espèces qui, par leur présence et/ou absence, sont significatifs d'une ou de plusieurs propriétés de l'écosystème dont ils font partie ».

L'utilisation des indicateurs est aujourd'hui reconnue comme l'une des techniques les plus efficaces pour la recherche écologique appliquée aux eaux de surface et aux eaux côtières (directive 2000/60/CE sur la qualité écologique de l'eau) (**PNUE/PAM/MED POL., 2004**). Lors de l'étude des relations de cause à effet entre stress et santé des écosystèmes (incidences sur l'élément biologique), un grand nombre d'indicateurs biologiques et écologiques ont été élaborés comme autant d'outils susceptibles de suivre les modifications de la biodiversité du niveau moléculaire (gène) à celui de l'écosystème. Les indicateurs biologiques peuvent être définis comme des mesures de la santé des organismes face aux stress environnementaux, qui portent sur plusieurs niveaux d'organisation biologique et d'échelle temporelle de réponse (**PNUE/PAM/MED POL., 2004**).

En résumé, dans le contexte environnemental, les biomarqueurs offrent l'avantage d'être des indicateurs sensibles démontrant que le contaminant a été internalisé par l'organisme, a été distribué dans les différents tissus et a induit des effets toxiques au niveau de cibles spécifiques (**Barillet, 2007**).



**Figure 3:** Représentation graphique de l'ordre séquentiel des réponses à un stress au sein d'un système biologique.

## **I.6. Stress Oxydant**

### **I.6.1 Définition du stress oxydant**

Stress oxydant: état de déséquilibre entre la production d'espèces réactives et les défenses de l'organisme.

Le stress oxydant n'est pas une maladie mais un mécanisme physiopathologique. Un excès d'espèces réactives mal maîtrisé favorisera une maladie ou un vieillissement accéléré.

Un état de stress oxydant existe lorsqu'au moins une des trois conditions suivantes est présente:

- Excès des espèces réactives d'O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>ou Cl<sub>2</sub>
- Défenses insuffisantes (endogènes et exogènes)
- Mécanismes de réparation insuffisants

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et leur destruction par des systèmes de défenses anti-oxydantes. Les radicaux libres peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles: protéines, lipides et acides nucléiques. Les radicaux libres sont une forme particulière d'espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (ou non apparié). Le champ magnétique créé par sa rotation, ou spin, n'est donc pas compensé par la rotation en sens inverse d'un électron apparié. Cette propriété rend les radicaux libres aptes à réagir avec différentes molécules, notamment lors de réactions en chaîne dont l'exemple le plus connu est celui de la peroxydation des lipides. La réactivité des radicaux de l'oxygène ne doit pas non plus d'anions superoxydes se produit lorsque la chaîne respiratoire mitochondriale fonctionne. Si cette production de radicaux superoxydes reste faible et ne concerne que quelques pourcents de l'oxygène utilisé par la respiration, elle peut s'amplifier lorsque la respiration devient plus intense (effort physique) ou lorsque intervient des désordres mitochondriaux génétiques, inflammatoires ou nutritionnels. L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées soumises à un phénomène appelé explosion oxydative et qui consiste en l'activation du complexe de la NADPH

oxydase capable d'utiliser de l'oxygène pour produire de grandes quantités d'anion superoxyde dans la membrane cellulaire. D'autres cellules comme les lymphocytes B possèdent sur leur membrane de systèmes NADPH oxydase similaires produisant des radicaux en quantité plus faible comme médiateurs intercellulaires. De plus, les cellules inflammatoires et immunes peuvent produire des cytokines comme le TNF $\alpha$  qui est capable de faire produire des radicaux par la mitochondrie des cellules cibles (Matés et al., 1999)

### **I.6.3 Mécanismes anti-oxydants**

#### **➤ Les Enzymes :**

##### **○ Les superoxydes dismutases (SOD)**

La SOD est un enzyme antioxydant primaire essentiel qui réagit en défense de l'organisme contre les produits toxiques du métabolisme cellulaire. Il est capable d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation. Son rôle est de transformer dans les mitochondries, les radicaux superoxydes en peroxydes d'hydrogène, ce dernier, étant beaucoup moins réactifs (Moumen et al., 1997). Il existe différents cofacteurs sur son site actif, qui sont classés par isoenzymes, dont la structure d'ensemble est très bien conservée lors de l'évolution. Les isoenzymes forment un puit hydrophobe au centre de la protéine, dans lequel se glisse l'anion superoxyde.

##### **○ Les catalases**

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus mais sont particulièrement abondantes dans le foie et les globules rouges. Parmi les enzymes connus c'est un des plus efficaces. Ce sont des enzymes tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH, avec une masse moléculaire de 240 kDa. Elles catabolisent les peroxydes d'hydrogènes en molécules d'eau pour prévenir la formation de radicaux hydroxyles (Matés et al., 1999).

##### **○ Les peroxydases**

##### **Glutathion peroxydase à sélénium (GPx)**

Ces enzymes ont en commun une structure tétramérique, chaque tétramère possédant un atome de sélénium dans son site actif, très fortement fixé à la chaîne peptidique, puisque incorporé sous forme de sélénocystéine dans la séquence primaire. L'introduction du sélénium se faisant selon un mécanisme particulier dit péri-traductionnel. La GPx est inactivée par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, le tertbutylhydroperoxyde, et HO- quand elle est incubée sans glutathion.

L'enzyme natif n'est pas sensible à la trypsine ni à la chymotrypsine. Cet enzyme fait 80 kDa, sa sensibilité à la protéolyse augmente après traitement par des radicaux ou des peroxydes. Le rôle de la glutathion peroxydase à sélénium est très important dans la plupart des tissus où elle réalise la quasi-totalité de l'élimination de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comme dans les globules rouges ou les plaquettes.

## **I.7. Généralités sur la pêche.**

### **I.7.1. La dégradation des ressources marines : les conséquences**

La pollution et la surexploitation des ressources halieutiques, peut entraîner la disparition des poissons les plus gros et les plus âgés d'une population ou d'un stock. Ces populations se caractériseront alors par la présence de poissons moins productifs et plus petits (indicateur du déclin des stocks). La surexploitation peut avoir également une incidence négative sur l'écosystème (l'équilibre écologique). Attaquer un maillon de la chaîne alimentaire revient à perturber un écosystème dans sa totalité (FAO, 1996).

### **I.7.2. L'impact de la pollution halieutique sur le consommateur**

Qu'il s'agisse des produits de la pêche provenant des milieux marins, des eaux dulçaquicoles ou des diverses formes d'aquaculture, le poisson pêché et utilisé pour nourrir les populations humaines peut provoquer des effets positifs mais aussi négatifs à la santé humaine.

Comme les consommateurs sont de plus en plus avertis en ce qui concerne la qualité du poisson et les réglementations plus sévères introduites par les gouvernements pour garantir cette qualité, les pays en développement ont plus de difficultés à respecter les normes minimales fixées dans le cadre du Codex Alimentarius de la FAO/OMS.

Le rejet dans l'environnement de contaminants tels que les métaux lourds, les BPC et la dioxine, et leur accumulation dans la chaîne alimentaire, peuvent se répercuter sur la qualité des produits de la mer et par la suite sur la santé du consommateur. Les problèmes de contamination des milieux continentaux et côtiers et, par voie de conséquence, des produits aquatiques, par des bactéries pathogènes et des virus et des produits chimiques. Les substances nutritives en provenance des mêmes sources favorisent également la contamination des poissons et des invertébrés, qu'ils soient cultivés ou sauvages (FAO, 1996).



# **MATERIEL ET METHODES**

**CHAPITRE II  
MATERIELS ET METHODES****II.1. Période et lieu de stage**

La présente étude est réalisée au centre national de recherche et de développement de la pêche et aquaculture (CNRDPA) de Bou Ismail -Tipaza pendant 3mois (Avril-juin 2015)

L'objectif de l'étude est l'évaluation de la qualité de la sardine (*sardina pilchardus*) par la détermination des propriétés physico-chimiques, biochimiques et microbiologiques ainsi l'utilisation des biomarqueurs de stress pour estimer la qualité de *sardina pilchardus*.

**II.2. Echantillonnage et conditionnement**

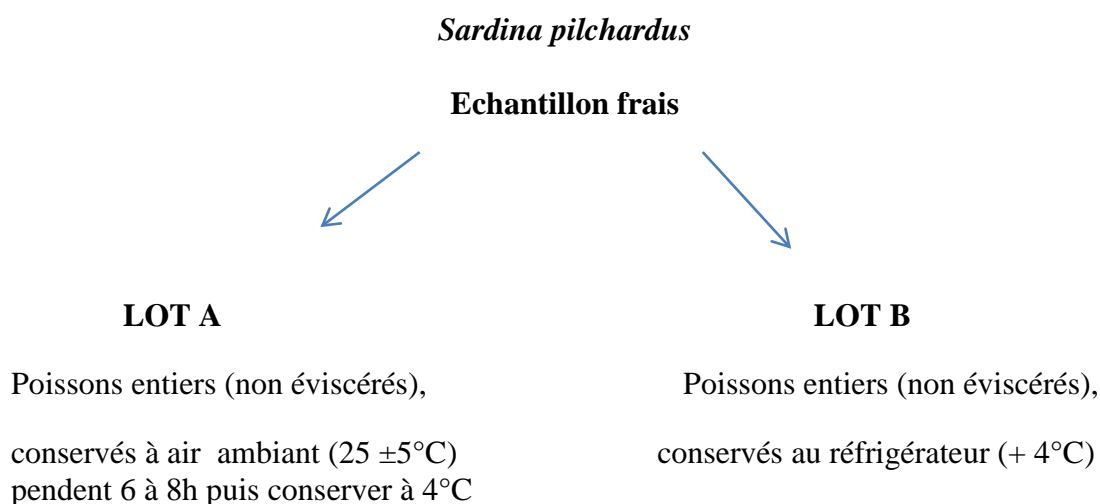
L'étude expérimentale porte sur la sardine (*Sardina pilchardus*), dont le poids moyen est de (20g ) et la longueur totale moyenne est de (15cm ).

L'échantillonnage est réalisé lors de la criée matinale au niveau du port de pêche Bou Haroun.

Les échantillons sont ensuite acheminés sous glace au laboratoire CNRDPA

Pour les différentes expérimentations réalisées lors de la présente étude, un effectif de dix individus est retenu par mode.

Les sardines sont réparties en deux lots, selon le mode de conservation comme suit:



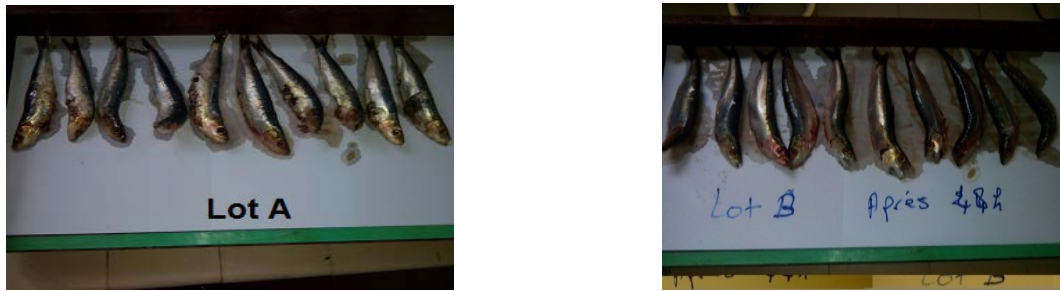


Figure 4 : poissons entiers conservés à température ambiante et au réfrigérateur.

**II.3. La répartition des échantillons selon le mode de conservation**

L'expérimentation repose sur des analyses physico-chimiques, biochimiques et microbiologiques. Pour ce fait, la figure (6) illustre la stratégie adoptée avec les différentes démarches appliquée :

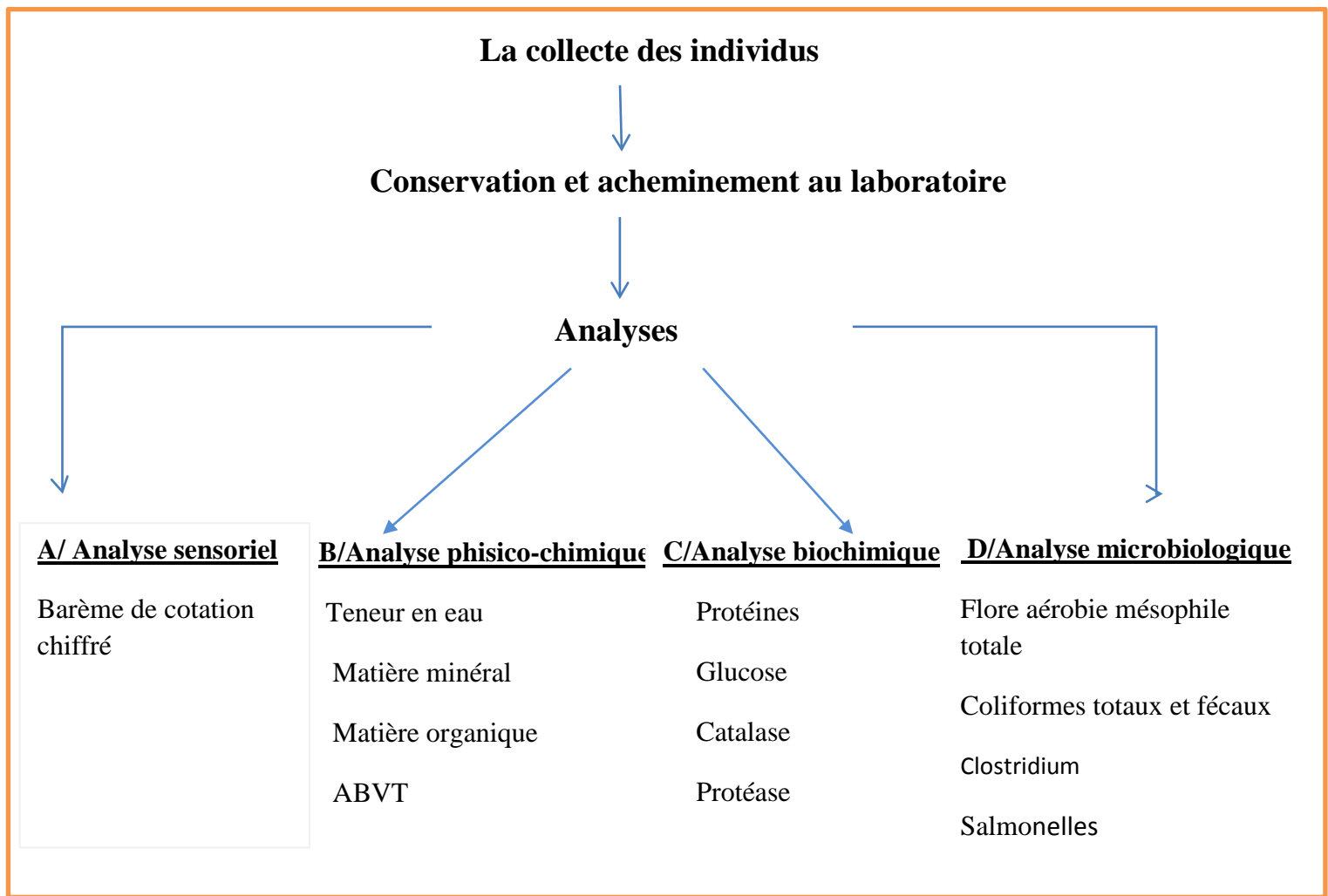


Figure 5: plan adoptée avec les différentes démarches appliquées

**II.A. Analyse sensorielle.**

Cette analyse a été réalisée sur les poissons entiers non filetés. La méthode utilisée est le système de cotation chiffré de la fraîcheur du poisson défini par le règlement du conseil N° 103/76/CEE (voir tableaux II en annexe A) selon l'équation suivant :

$$IA = \frac{\text{moyenne calculée par la somme des cotation}}{\text{nombre de paramètres appréciés}}$$

Le test sensoriel a été effectué quotidiennement par les membres scientifiques du laboratoire.

Chaque membre a donné un score pour les paramètres utilisés dans ce système d'évaluation, afin de déterminer le temps de rejet organoleptique du poisson.

De plus, nous avons essayé d'établir une corrélation avec l'analyse biochimique et le profil microbiologique.

**II.B. Analyses physico-chimiques****II.B.1. La teneur en eau**

3 g d'échantillon de muscle sont pesés (balance portée 200 g, précision 0,01g) et placé à l'étuve toute une nuit à une température variant entre 105 et 110°C pour séchage. Après refroidissement totale, le muscle séché est pesé à nouveau. Ce test est réalisé sur dix individus en même temps et dans les mêmes conditions.

$$\text{Teneur en eau} = \text{poids total humide} - \text{poids total sec}$$

$$\% \text{ H}_2\text{O} = (\text{poids H}_2\text{O} / \text{Poids frais}) * 100$$

$$\% \text{ H}_2\text{O} = [ (\text{poids frais} - \text{poids sec}) / (\text{poids frais}) ] * 100$$

**II.B.2. Matière minérale et organique**

On met une quantité de 1 à 3 g de chaire dans un creuset dans un four à moufle à une température de 450 C° pendant 3 à 5 h. ensuite le creuset est retiré et pesé une deuxième fois pour avoir le poids de la matière minérale, la matière organique est déduite selon cette équation :

$$\text{Matière organique} = \text{poids total frais} - \text{poids minérale} - \text{poids de l'H}_2\text{O}$$

### II.B.3. Teneur en azote basique volatil total (ABVT)

L'analyse de l'ABVT a été réalisée selon la technique basée sur la distillation, proposé par (Woyewoder *et al.*, 1986) et modifié par (Uriarte-Montoya *et al.*, 2010)

On mélange 5 g de la chair avec 300 ml d'eau distillé et homogénéiser pendant 2 min. on rajoute 2 ml d'huile comestible et 2 g de sulfate de magnésium. Le mélange est mis dans un ballon et placé dans le distillateur puis chauffer jusqu'à ébullition. Le distillat est récolté après chaque 25min dans un bécher contenant 25 ml d'acide borique à 2% (W/V) additionné à une goutte de rouge de méthyle et titré directement avec l'acide sulfurique à 0.05 N. Les données ont été exprimé en mg d'ABVT / 100g d'échantillon suivant cette équation :

$$\text{Mg ABVT} = (V1 - V2) * N2 * 100 * 14 / W2$$

Où : **V1** : quantité (ml) de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> utilisés pour l'échantillon.

**V2** : quantité (ml) de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> utilisé pour le témoin.

**N2** : normalité de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

**W2** : poids de l'échantillon.

### II.B.4. Détermination du pH

La mesure du pH a été réalisée selon la procédure de Wang, 2002. Dix grammes d'échantillon ont été homogénéisé avec 50 ml d'eau. Le PH est mesuré à l'aide du pH mètre.

### II.C. Analyses biochimiques

#### ➤ Préparation des échantillons tissulaires en vue des analyses des biomarqueurs

Les dosages biochimiques relatifs aux suivis de biomarqueurs Catalase (enzyme de défense antioxydante) et Protéase (enzyme digestive), ainsi que le dosage des protéines et du glucose nécessitent que les tissus biologiques (foie, branchies et intestin) fassent l'objet préalable d'une homogénéisation et d'un fractionnement subcellulaire. L'ensemble de ces procédures se déroulent dans des tampons adaptés.

Le tampon dans lequel on homogénéisera devra avoir les propriétés physicochimiques permettant de maintenir la stabilité des molécules ou organites qu'on désire étudier. On devra apporter une attention particulière à sa composition et à son pH surtout.

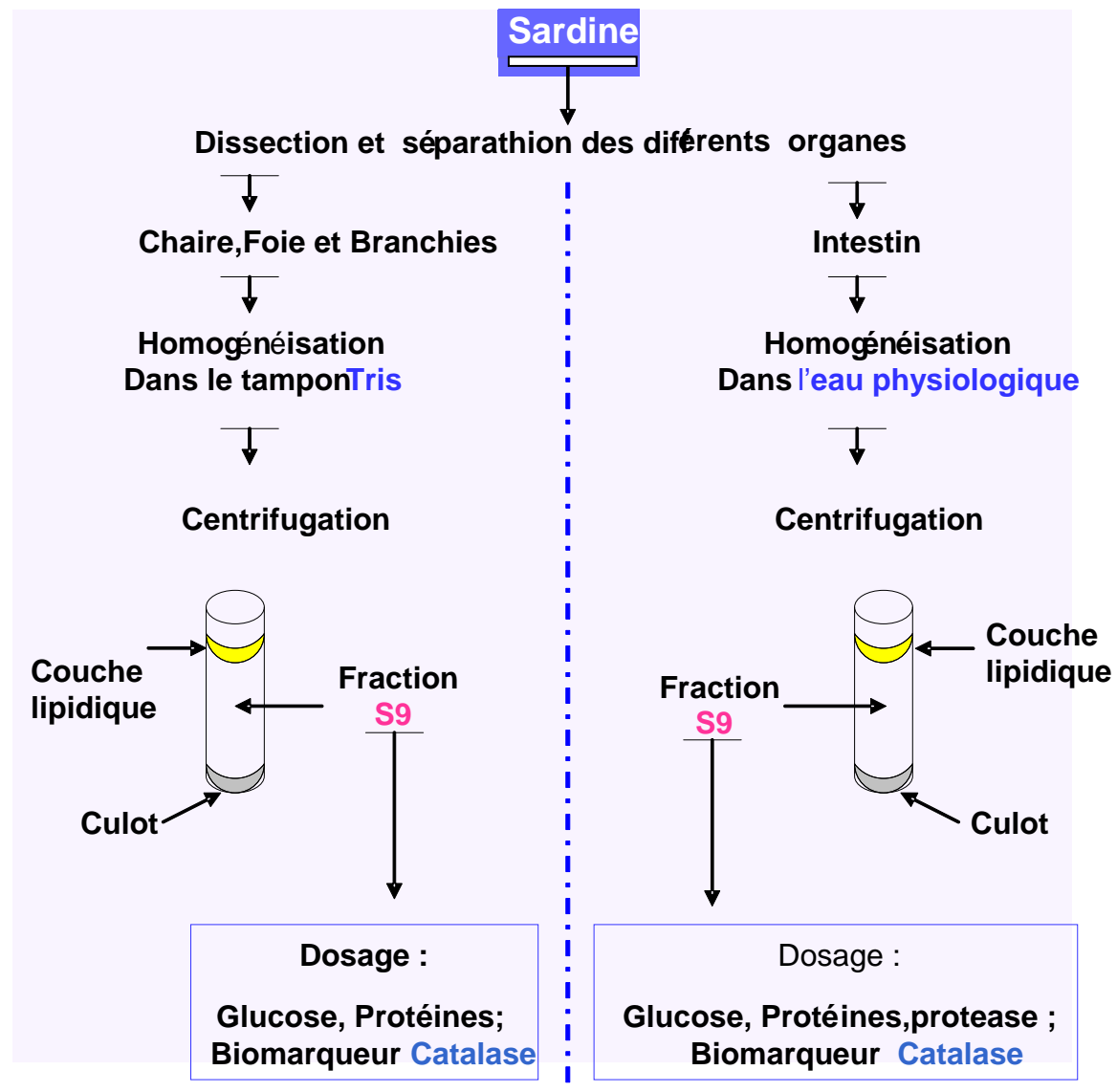


Figure 6: Procédures expérimentales (dosages biochimiques).

➤ **Homogénéisation des tissus la chaire, Foie et Branchies .**

Les tissus sont homogénéisés à raison de (1/10 P/V) dans le tampon tris (tris(hydroxyméthyl)aminométhane) (20mM ; pH7,8) en utilisant un mixeur déchiqueteur.

La centrifugation de l'homogénat est faite à 10 000g pendant 10min à 10°C. Le surnageant ainsi obtenu (Fraction S9) est utilisé pour doser le glucose, les protéines et comme source d'enzyme pour le dosage de la catalase.

➤ **Homogénéisation du tissu intestinal**

L'intestin est homogénéisé à raison de 40% avec de l'eau physiologique (NaCl à 0.9% P/V). L'homogénat est centrifugé à 10 000g à 10°C pendant 20min. Le surnageant ainsi obtenu (Fraction S9) servira au dosage du glucose, des protéines et de source d'enzyme pour le dosage de la protéase.

### **II.C.1.Dosage du Glucose par la méthode DNS**

➤ **Principe**

Les sucres réducteurs (en raison de leurs groupements carbonyle libres C=O) réagissent avec le DNS (acide di-nitrosalicylique) en le réduisant en acide 3-amino-5-nitrosalicylate (voir annexe C).

➤ **Mode opératoire**

Après avoir dilué les échantillons de la fraction S9 pour être dans un intervalle de mesure cohérent avec la gamme étalon, on mélange dans des tubes à essais 03 mL de chaque échantillon et 02 mL de DNS (dans le blanc l'eau distillée remplace S9). On homogénéise avant d'incuber les tubes au bain-marie pendant exactement 05 minutes à 100°C. Les tubes sont par la suite refroidis dans un bain d'eau froide et additionnés de 15 mL d'eau distillée. La densité optique des mélanges réactionnels trempés est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 530 nm. Les différentes concentrations des échantillons sont déterminées à partir de la gamme étalon.

**II.C.2. Dosages des protéines par la méthode de Lowry****➤ Principe**

De nombreuses méthodes ont été mises au point pour doser les protéines. Ce sont généralement des techniques spectrophotométriques basées sur diverses caractéristiques spectrales ou réactionnelles des acides aminés constituant les protéines.

La méthode développée par **Lowry et al., 1951** combine une réaction au biuret et une réaction au réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier, à base de phosphomolybdate et de phosphotungstate, réagit avec les tyrosines et les tryptophanes, pour donner une coloration bleue qui s'ajoute à celle du biuret.

Cette méthode a été tellement utilisée que l'article original de Lowry est un des articles scientifiques les plus cités au monde.

**➤ Mode opératoire**

Dans des tubes à essais, les prises d'échantillons de la fraction S9 (surnageant) sont diluées au 1/5-1/8-1/10. Le tube de blanc contient 01ml d'eau distillée.

05ml de réactif Lowry sont ajoutés à chaque tube. On homogénéise et on attend 10min.

Par la suite, 0,5ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué extemporanément au 1/2 est additionné au mélange (il est important d'agiter juste après l'addition de ce dernier). L'ensemble est mis au repos à l'obscurité au moins 30min. Ainsi la lecture de l'absorbance est faite à 660nm.

La gamme d'étalonnage est réalisée à partir de la solution de sérum albumine bovine (SAB) étalon mère à 7,6g. Les étalons filles sont ainsi obtenus par dilution de la solution mère.



### II.C.3. Dosage de la Catalase par mode Cinétique (dans la chaire, l'intestin le foie, les branchies)

#### ➤ Principe

L'activité enzymatique est une mesure de la quantité d'enzyme active dans une préparation. L'unité d'activité enzymatique (U) est définie en terme de quantité de substrat disparaissant par unité de temps ou de quantité de produit apparaissant par unité de temps.

L'approche cinétique consiste à suivre en continu la quantité du composé voulu.

La méthode typique consiste donc à mélanger les réactifs et la préparation enzymatique dans une cuvette de spectrophotomètre puis à suivre la variation temporelle du paramètre mesuré (Absorbance).

Dans notre pratique l'activité catalase est déterminée selon la méthode de Lartillot décrite par **Gülüzar et al., 2006**.

#### ➤ Mode opératoire

Dans notre pratique, 2.5ml du substrat (100µl solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 30% ; 2.4ml tampon phosphate 75mM à pH7) sont placés dans une cuvette du spectrophotomètre déjà réglée sur le mode cinétique.

50µl de la fraction S9 (source d'enzyme) sont ajoutés au mélange, ainsi on déclenche le mode cinétique du spectrophotomètre et on suit la décomposition de peroxyde d'hydrogène dans un intervalle de temps de 60s.

### II.C.4. Dosage de la protéase dans l'intestin

#### ➤ Principe

L'approche du dosage de la protéase souvent utilisée est celle à temps fixe. Elle consiste essentiellement à mélanger les composants de la réaction et à incuber durant un certain temps. A la fin de l'incubation (généralement de 30min à 02h), on prélève des échantillons. On y mesurera alors la quantité des sous produits issus de la

dégradation du substrats (dans le cas de protéases la tyrosine est le sous produit issu de la dégradation de la caséine).

➤ **Mode opératoire**

Le dosage de l'activité protéase est déterminé selon la méthode décrite par **Ranilson et al.,2005**.

02ml de la solution de caséine (01% P/V dans le Tris-HCl pH7.2) utilisée comme substrat est incubée avec 02ml de surnageant (source d'enzyme S9), préalablement dilué à différentes rations, à une température de 50°C pendant 01heure.

La réaction est stoppée en ajoutant 01ml du TCA à 10% (Acide trichloroacétique). On laisse reposer pendant 15 min et on effectuera une deuxième centrifugation à 6000g pendant 15min. La lecture de l'absorbance est faite à 280nm.

Dans le blanc l'eau physiologique remplace les 02ml du S9.

## **II.C. Analyses microbiologiques**

➤ **Traitement des échantillons : préparation de la solution mère**

L'analyse microbiologique des échantillons s'effectue à partir d'une solution mère dans la composition est 100 g de chair de sardine homogénéisé dans 300 ml de solution Tryptone sel eau (TSE), réalisant ainsi une solution mère à  $10^{-1}$  à partir de laquelle sont préparées les autres dilutions décimales ( $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ ).

### **II.D.1. Numération de la flore aérobie mésophile totale**

La flore aérobie mésophile totale(FAMT) est un indicateur de la qualité Hygénique qui permet d'évaluer le nombre d'unités formant colonie(UFC) présentes dans un produits

Le milieu utilisé pour ce test est le Plate Count Agar le (PCA), (**Afnor, 2003**)

On effectue deux dilutions décimales. On prend 1 ml de chaque dilution et on les répartit en gouttes au fond de la boîte de petri (pour chaque dilution 2 boîte sont utilisées) on recouvre les gouttes d'une couche de gélose PCA en surfusion (45 - 47 C°) et on homogénéise le tout avec des mouvements circulaires on laisse refroidir et

on la recouvre d'une deuxième couche de gélose PCA, pour immobiliser les bactéries et former des colonies bien définies. Ces derniers sont placés, face retournées, dans une étuve à 30 C° pendant 72h.

Les boîtes dénombrables sont comprises entre 30 et 300 (**Figure 8, annexe E**).

### **II.D.2. Numération de levures et moisissures**

Le milieu utilisé pour ce test est (OGA), proposé en 1973 par l'AFNOR (association française de normalisation).

On effectue deux dilutions décimales. On prend 1 ml de chaque dilution et on les répartit à l'aide d'un râteau sur la gélose (pour chaque dilution 2 boîtes sont utilisées). On incube les boîtes à 25C° pendant 5 jours.

Les boîtes dénombrables sont comprises entre 30 et 300.

### **II.D.3. Numération des Streptocoques fécaux ou thermotolérants (Dellaras, 2000)**

#### **❖ Mode opératoire**

La technique NPP consiste à préparer dans un portoir une série de 9 tubes contenant 10ml de milieu Rothe s/c à raison de trois tubes pour chaque dilution. Alors, 1ml de chaque dilution décimale  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ , est transféré aseptiquement dans chacun des trois tubes. En prenant soin d'homogénéiser l'inoculum avec le milieu. L'incubation des tubes est faite à 37°C pendant 24 à 48h. Les tubes présentant un trouble microbien après incubation, sont considérés comme positifs.

#### **❖ Test de confirmation**

A partir des tubes positifs, un repiquage est procédé en transférant, à l'aide d'une pipette stérile, 3 à 4 gouttes vers un tube contenant le milieu Eva Litsky. L'incubation des tubes est effectuée à 37°C pendant 24h.

Les tubes présentant une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube avec un trouble microbien ; sont considérés comme positifs, donc présence de Streptocoques fécaux.

#### II.D.4. Numération des Clostridium sulfito-réducteurs

Les clostridiiums sulfito- réducteurs sont très souvent à l'origine de Toxi-infections d'origine alimentaire.

##### ❖ Préparation de milieu culture :

On fait fondre le milieu de culture viande – foie (VF), qui est ensuite refroidi dans un bain marie à 45°C additionné d'une ampoule d'alun de fer ( $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ), et d'une ampoule de sulfite de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ). La gélose est soigneusement mélangée en évitant la formation des bulles d'air.

##### ❖ Ensemencement

On porte aseptiquement 5 ml de la solution mère dans 4 tubes. Après avoir soumis les tubes à un choc thermique (10min dans un bain marie après mettre dans un bain froid). Afin d'éliminer les formes végétatives et de ne garder ainsi que les formes sporulées (thermorésistantes)

On ajoute 15 ml de gélose viande - foie sulfité (sulfite de sodium) et 4 à 5 gouttes d'Alun de fer. On couvre les tubes avec une couche de vaseline pour empêcher l'introduction de l'oxygène (**figure 9, annexe E**).

On incube les tubes à 37 C°, la lecture doit se faire impérativement à 16 h, car les colonies de clostridium sont envahissantes qui pourrait nous rendre en face d'un tube noire impossible à interpréter.

Les colonies ayant un diamètre supérieur à 0.5 cm sont considérées. Le nombre des clostridiiums est exprimé par le nombre le plus probable.

#### II.D.5. Numération des coliformes totaux

La présence des coliformes totaux est une indication de contamination fécale.

##### ❖ Mode opératoire

La méthode utilisée est celle de 3- 3 -3. Cette méthode préconise l'utilisation de neuf tubes remplis (9 ml) avec le milieu bouillon lactosé pourpre de bromocrésol (BCPL) à

différentes concentrations. Trois tubes sont à double concentration (D/C) et six tubes à simple concentration (S/C).

Les dilutions de solution mère sont ajoutées respectivement aux tubes et incubé à 37 C° pendant 24 à 48 h (**figure 10, annexe E**).

❖ **Lecture :**

Sont considérés comme positifs les présentant à la fois :

- ✓ un dégagement de gaz
  - ✓ trouble microbien accompagné d'un virage de milieu au jaune (témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).
- Le dénombrement se fait à partir de la table de Mac Gardy donnent pour chaque nombre caractéristique le nombre le plus probable (NPP).

#### **II.D.6. Numération des coliformes fécaux ou thermotolérants**

A partir des tubes positifs du test précédent, on prélève 1 ml, et on l'ensemence dans 9 ml du milieu schubert et l'incuber à 44 C° pendant 24h.

Les tubes positifs présentent un anneau rouge témoin de production d'indole après l'ajout de quelques gouttes du réactif d'Erlich de Kovacs.

#### **II.D.7. Recherche des salmonelles**

La recherche de ces germes s'effectue par un test de présence ou absence suivant la norme AFNOR V 08 013 (**Benmokhtar, 2000**).

Elle consiste à faire un pré enrichissement, dans un milieu non sélectif mais qui permet le développement des bactéries, avant de procéder à l'enrichissement et l'isolement en deux phases. Le mode opératoire comporte :

❖ **Pré-enrichissement**

Le pré enrichissement s'effectue, dans un flacon stérile, en mélangeant 25g de chaire avec 75ml de milieu TSE (Tryptone Sel Eau). L'incubation sera maintenue à 37°C pendant 24heures.

**❖ Enrichissement primaire**

Ce dernier consiste à mélanger 10ml de milieu de pré-enrichissement avec 100ml de bouillon Sélinite-Cystéiné (Flacon SFB supplémentée avec son additif). L'incubation est faite à 37°C pendant 18 à 24heures. Le contenu du flacon vire en rouge brique en présence de salmonelles.

**❖ Enrichissement secondaire et isolement**

Le bouillon Sélinite-Cystéiné incubé la veille coloré en rouge brique fera l'objet : d'une part, d'un enrichissement secondaire sur bouillon Sélinite-Cystéine en tube de 10ml à raison de 0,1ml par tube et d'autre part, d'un isolement sur gélose Hektoen (H1). Dans les deux cas, l'incubation se fait à 37°C pendant 24h.

**❖ Lecture et identification**

D'une part, le bouillon Sélinite-Cystéiné fera l'objet : d'un isolement sur gélose Hektoen (H2) et d'autre part, la boîte de gélose Hektoen (H1) subira une lecture en tenant compte du fait que Salmonella se présentent le plus souvent sous forme de colonies de couleur grise bleutée à centre noir.

Il est indispensable que toutes les colonies caractéristiques doivent faire l'objet d'une identification biochimique.

L'absence des colonies de salmonelles, ainsi que l'absence du virage de coloration du milieu d'enrichissement secondaire indiquent l'absence des salmonelles.

# **RESULTATS ET DISCUSSION**

### CHAPITRE III RESULTATS ET DISCUSSION

#### Résultats de la première série de contrôle

##### 1. Résultats des analyses sensoriels (qualité organoleptique)

L'appréciation de la fraîcheur de la sardine a été faite selon le barème de cotation de la fraîcheur du poisson défini par le règlement du conseil N° 103/76/CEE (voir tableau XIII en annexe A)

Ci-dessous (tableau II) sont présentés les résultats du calcul de l'indice d'altération de chaque échantillon.

**Tableau II:** résultats de calcul de l'indice d'altération de la sardine

| Echantillons | E1   | E2   | E3   | E4   | E5   |
|--------------|------|------|------|------|------|
| IA           | 2.83 | 3.00 | 2.66 | 2.16 | 2.00 |

D'après le tableau II ;on remarque que l'ensemble des échantillons de sardine présentait une qualité satisfaisante de point de vue aspect visuel, dont l'indice d'altération IA est inférieur ou égale à 3 traduisant la bonne qualité de la sardine traitée.

Ainsi, l'analyse sensorielle des caractères organoleptiques de la sardine fraîche a permis de relever qu'à l'arrivée au laboratoire, la sardine est caractérisée par son aspect brillant, par la présence d'un mucus aqueux et transparent, et par une odeur qui rappelle celle des algues marines. L'œil est convexe, la cornée transparente avec une pupille noire brillante, les branchies de couleur rouge et la chair est ferme et élastique. La paroi abdominale est intacte chez la majorité des individus et une partie des écailles ne sont plus adhérentes au corps.

Après ouverture du poisson, la colonne vertébrale apparaît adhérente à la chair et le péritoine est adhérent et intact.

Le degré de fraîcheur ainsi attribué aux échantillons de la capture (IA moyen =2.08) traduit l'excellente qualité de ces derniers comparativement à ceux issus des points de vente en détaille dont on comptait une moyenne de fraîcheur de 2.83. Le poisson destiné à la consommation à l'état frais doit avoir un indice n'excédant pas 3.



Il est à noter que l'évaluation organoleptique doit être effectuée par un personnel convenablement qualifié. Ils évaluent une gamme bien déterminée de produits et utilisent une seule méthode d'évaluation organoleptique. Ainsi, les analyses doivent utiliser des méthodes sensorielles quand ils appliquent des critères fondés sur des caractéristiques organoleptiques pour vérifier la conformité des produits de la pêche.

## 2. Résultats des analyses physico-chimiques

Les résultats d'analyse des différents paramètres physico-chimique sont regroupés dans le tableau III.

**Tableau III** : composition chimique des échantillons de sardine.

| Echantillons | %H <sub>2</sub> O | %MM   | %MO   | pH          | ABVT |
|--------------|-------------------|-------|-------|-------------|------|
| <b>E1</b>    | 80.93±2,26        | 10.43 | 6.73  | 7.13        | =    |
| <b>E2</b>    | 68.86±0,85        | 11    | 19.93 | 6.89±0,002  | 11.2 |
| <b>E3</b>    | 74.89±4,20        | 6.22  | 18.71 | 6.886±0,017 | 7.42 |
| <b>E4</b>    | 68.42±4,82        | 3.45  | 24.85 | 7.10±0,021  | 11.9 |
| <b>E5</b>    | 67.39±1,70        | 4.55  | 12.54 | 6.958±0,017 | 9.1  |

E1-2-3 : Echantillons de commerce ; E4-5 : Echantillons de captage.

L'analyse physico-chimique effectuée sur la sardine fraîche des différents échantillonnages a mis en évidence des teneurs en eau de la chaire comprises entre 67 et 80%. Le poisson gras contient en moyen environ 65%, et le poisson maigre, environ 80%. L'eau est le principal constituant de la chaire des poissons. Elle représente 70 à 80% de la matière fraîche. (**Eymard, 2003**).

Par ailleurs, la teneur en eau peut constituer un indice pratique dans l'évaluation de la fraîcheur d'un produit. Des pertes en eau de la chaire peuvent être à l'origine d'une altération rapide de la structure musculaire des poissons d'où le risque de la dénaturation de la qualité de ces derniers.

Chez le poisson frais, la teneur en cendre (matière minérale) varie de 1.3 à 2.5% de la composition musculaire de la chair. La matière organique étant la somme des matières grasses, des protéines, glucides etc...

D'après le tableau III, on remarque que la moyenne des teneurs en cendre des échantillons de captage est inférieure à celle mesurée chez les individus issus des circuits de vente. Une hausse des teneurs en matière minérale implique automatiquement une baisse en matière organique conduisant à une diminution de la qualité du produit. Dans la présente étude, la diminution en qualité des échantillons du commerce par rapport à ceux de la capture peut être expliquée par les conditions et le temps d'entreposage de la sardine avant la vente de cette dernière arrivant au consommateur.

Les résultats de mesure du pH de la chair des poissons (Tableau III) montrent des valeurs moyennes de  $7.029 \pm 0.21$  pour la sardine prélevée à la capture et des valeurs moyennes de  $6.82 \pm 0.006$  pour les échantillons du commerce.

Le pH est aussi un paramètre important qui montre la diminution de la qualité de la chair durant le stockage. Chez la sardine vivante, le pH du muscle est à 7.2. Après 2 et 8 premières heures, il atteint, respectivement, 6.8 et 5.8 (Watabe et al., 1991). Selon (Haard, 2002) le pH post mortem varie de 5.5 à 7.1 suivant la saison, les espèces et d'autres facteurs.

L'acidification (diminution du pH) est à l'origine du rancissement de la chair des poissons. Elle est due principalement à la glycolyse anaérobie et la formation d'acide lactique suite à l'épuisement des réserves en oxygène des cellules musculaires (Huss, 1986). Les échantillons de sardine de la présente étude ne semblent pas atteindre le rancissement.

L'activité des enzymes dépend du pH, il affecte les réactions qui se déroulent pendant le stockage du poisson. Un pH relativement faible peut entraîner une diminution des liaisons d'eau dans les myofibrilles, affectant la diffusion de lumière et l'apparence du poisson. Un pH faible favorise aussi l'oxydation des myoglobines et des lipides (Haard, 2002).

A l'issu des résultats du tableau III on constate que la teneur moyenne en ABVT (Azote Basique Volatil Total) ne dépasse pas 12mg/100g de chaire pour l'ensemble des échantillons traités. De point de vue normatif les échantillons sont conforme à la norme JORA « inférieur à 20mg/100g » (voir tableau XV en annexe A). (**Park et al., 1996**). Un seuil de **25-30mg/100g** de chair est recommandé par la Décision Européenne 95/194/CE. De cela on peut qualifier nos moules de qualité satisfaisante.

L'azote basique volatile total est un critère utilisé pour évaluer l'altération des produits de la mer. Il se traduit par l'odeur d'ammoniaque susceptible de se dégager d'un produit donné. L'ammoniaque, les di et triméthylamine ainsi que les amines résultant de la dégradation des protéines constituent l'ensemble de l'ABVT (**Knockaert et al., 2009**).

L'ABVT est un des critères utilisés pour évaluer l'altération des produits de la mer. Il résulte majoritairement de la dégradation des protéines par l'action de bactéries ou d'enzymes présentes dans le poisson.

Il est à noter que l'ABVT comme indice de qualité n'est pas performant sur toutes les espèces. C'est plus un indicateur qui reflète les stades d'altération plutôt que la fraîcheur mais il reste encore utilisé de nos jours

### 3. Résultats des analyses biochimiques

Les résultats des dosages biochimiques des teneurs en glucose, en protéines et les activités enzymatiques de la catalase et de la protéase dans les différents organes de la sardine sont présentés dans le tableau IV.

**Tableau IV** : Composition biochimique des échantillons de sardine

|           | Glucose (mg/g)   |                 |                  |                  | Protéine (mg/g)  |                  |                   |                  |
|-----------|------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|
|           | Branchies        | Chaire          | Foie             | intestin         | Branchies        | Chaire           | foie              | Intestin         |
| <b>E3</b> | 6,305 ±<br>0,231 | 8,862±<br>0,570 | 8,190            | 11,713±<br>2,380 | 15,665±<br>1,528 | 24,010±<br>0,228 | 74,182±<br>4,106  | 25,273±<br>2,159 |
| <b>E4</b> | 8,703            | 6,532           | 41,241±<br>2,935 | 11,427           | 24,603           | 38,253           | 90,508            | 40,6             |
| <b>E5</b> | 14,367±<br>2,836 | 8,298±<br>1,183 | 46,369±<br>5,134 | 19,748±<br>5,557 | 31,826±<br>3,705 | 62,048±<br>1,536 | 103,360±<br>7,603 | 66,188±<br>5,051 |

D'après le tableau IV, on constate que les réserves glucidiques et protéiniques varient selon l'organe considéré. Ainsi, pour la plupart des échantillons analysés, le foie se trouve l'organe le plus riche en glucose et protéines. L'organe le plus pauvre en ces réserves étant les branchies.

Les concentrations en glucose mesurées de la chair oscillaient entre 6.532 et 8.862 ± 0.57mg/g. la teneur maximale était inférieure à 0.9% de la composition totale. Les protéines montraient des taux inférieurs à 10% au niveau de la chair des poissons traités de la présente étude.

La comparaison des teneurs en réserves glucidique et protéique a mis en évidence une diminution claire de la qualité chez l'échantillon du commerce comparativement à ceux de captage. Les teneurs en réserves glucidique et surtout protéique, dans les différents organes de la sardine y compris la chair (ce qui est consommé), chez les échantillons issus à la capture étaient nettement supérieurs à celui de point de vente.

Après la mort, la qualité initiale du poisson se modifie sous l'effet des différents mécanismes qui se produisent et engendre la détérioration de poisson.

La teneur en glucides dans le muscle du poisson est faible et est influencée par les conditions de capture, qui peut conduire à l'épuisement des réserves de glycogène et ainsi à une diminution du niveau de glucides. Dans les conditions anoxiques post mortem, le glycogène continue d'être métabolisé, résultant de l'augmentation l'acide lactique avec l'abaissement du pH (**Schulz et al., 2005**).

**Tableau V:** Résultat du dosage de la protéase.

|           | Protéase (mg/g) |             |
|-----------|-----------------|-------------|
|           | Chair           | Intestin    |
| <b>E4</b> | 29,54           | 36.43±17.24 |
| <b>E5</b> | 38.767±13.221   | 24.56±7.263 |

A l'issu des résultats du tableau V (échantillon de captage) on constate que les échantillons de sardine ont montré des activités protéase au niveau de la chaire proches et même supérieurs à celles mesurées au niveau de l'intestin.

De nombreuses protéases ont été isolées des muscles du poisson et les effets de la dégradation protéolytique sont souvent reliés à un ramollissement considérable du tissu. Un des effets les plus notables de la protéolyse autolytique est peut-être l'éclatement de l'abdomen chez les espèces pélagique (poisson gras) comme la sardine comme ce fut le cas dans notre étude probablement (**Aksnes et Brekken, 1988**).

La mesure de l'activité protéase au niveau de la chaire de poissons paraît donc très utile pour évaluer la qualité de ces derniers. L'autolyse peut accélérer le développement des bactéries d'altération en fournissant un environnement favorable à leurs croissances.

**Botta et al., 1992** ont trouvé que l'autolyse de la cavité viscérale (éclatement abdominal) était d'avantage reliée à la manutention physique qu'à des facteurs biologiques comme la taille du poisson ou les aliments dans les viscères. En particulier, les opérations de congélation, le temps de décongélation et le temps de stockage sous glace influaient plus sur l'éclatement abdominal que les facteurs biologiques.

Les produits de la mer sont caractérisés par une diversité d'espèces très importante rendant l'explication et la compréhension des mécanismes d'altération très ardu et complexes. Les premiers changements survenant sont dus aux enzymes tissulaires et digestives, c'est ensuite le développement bactérien qui est le responsable de la dégradation et de la diminution de la qualité des produits de la mer. L'altération met en jeu un ensemble de processus microbiologiques, chimiques et physiques (**François 2011**).

Par ailleurs, la réduction du pH affecte les propriétés physiques de la chair. Quand le pH chute, la charge nette des protéines musculaires est réduite, causant leur dénaturation partielle et la perte d'une partie de leur capacité de rétention d'eau

### III. A.4. Résultats des analyses microbiologiques

La maîtrise de la contamination de la sardine par les bactéries pathogènes en particulier celles réglementées par différentes institutions nationales et internationales (FAMT, Coliformes ...), est aujourd'hui la préoccupation majeure. L'objectif est de déterminer les origines de contamination de la sardine ainsi que la préservation de santé humaine en développant des programmes de lutte adaptés.

Les résultats de dénombrement des différents germes de contamination, des échantillons analysés dans la présente étude, sont représentés dans le tableau VI

**Tableau VI** : Résultats des analyses microbiologiques de la sardine

|              | E1 | E2 | E3   | E4   | E5  |
|--------------|----|----|------|------|-----|
| FAMT         | -  | -  | 1620 | 3695 | 140 |
| CT           | -  | -  | 1290 | 690  | 790 |
| CF           | -  | -  | 690  | ≤90  | ≤90 |
| streptocoque | -  | -  | ≤90  | 186  | ≤90 |
| E- coli      | -  | -  | -    | -    | -   |
| Clostridium  | -  | -  | -    | -    | -   |
| Salmonelles  | -  | -  | -    | -    | -   |
| Levures      | -  | -  | 6000 | -    | -   |
| Moisissures  | -  | -  | 680  | -    | -   |

**E1-2-3** : Echantillons de commerces    **E4-5** : Echantillons de captage

### **Flore aérobie mésophiles totale (FAMT)**

Dans l'analyse microbiologique, les germes totaux constituent les premiers paramètres à prendre en considération dans un contrôle bactériologique de la sardine. Ils constituent un indice sensible et pratique dans l'évaluation de la qualité globale de la sardine.

Les résultats relatifs au dénombrement de la flore totale sont représentés dans le tableau.

Selon les tableaux on constate une présence de micro-organismes aérobie qui reste toujours inférieurs aux normes fixées par **JORA N°35 daté du 27 MAI 1998. ( $10^6$ )**

De point de vue hygiénique, les échantillons collectés présentent une bonne qualité pouvant qualifier la sardine comme produit consommable.

### **Coliformes totaux**

D'après les résultats obtenus, on observe une variation des valeurs qui dépassent la norme préconisées par **JORA. ( $10^3$ )**

De point de vue qualité, les échantillons analysés sont conformes aux normes.

### **Coliformes fécaux**

Les résultats de dénombrement des coliformes fécaux sont représentés par le tableau précédent.

D'après les résultats obtenus (tableau 6), tous les échantillons se relèvent non conformes dépassent largement les normes **JORA (4 ufc/ml)**

### **Streptocoques fécaux**

Les Streptocoques peuvent provenir de l'environnement, La présence des Streptocoques fécaux est un signe de contamination fécale.

Les résultats, pour l'ensemble des échantillons du présent travail ne dépassent pas 186 germes par 100g de chair. La valeur recommandée par le **JORA N°35 27 Mai 1998** est de  $10^3$  germes par 100 g de chair.

**Clostridium**

Le constat général issu des analyses bactériologiques de la recherche des clostridium est l'absence de ces derniers dans tous les échantillons. De point de vue qualité, les sardines analysées peuvent être considérés conforme à ce critère.

**Salmonelles**

Les résultats de la recherche des salmonelles montrent l'absence totale de ce germe dans l'ensemble des échantillons de sardine analysés.

Les salmonelles sont potentiellement pathogènes. Ce sont des hôtes du tube digestif des animaux et de l'homme. Par ses mains, ses expectorations, ses vêtements souillés, l'homme malade ou porteur sain ou infecté peut être également une cause de contamination.

Donc, elles sont conformes aux normes **JORA**

**Levure et moisissure :**

Les résultats obtenus dans le présent travail montrent une valeur de 6000 pour les levures et 680 pour les moisissures chez la sardine du commerce. Les échantillons du captage marquent une absence totale des levures et moisissures.



### III.B. Résultats de la deuxième série d'expérience (teste de conservation)

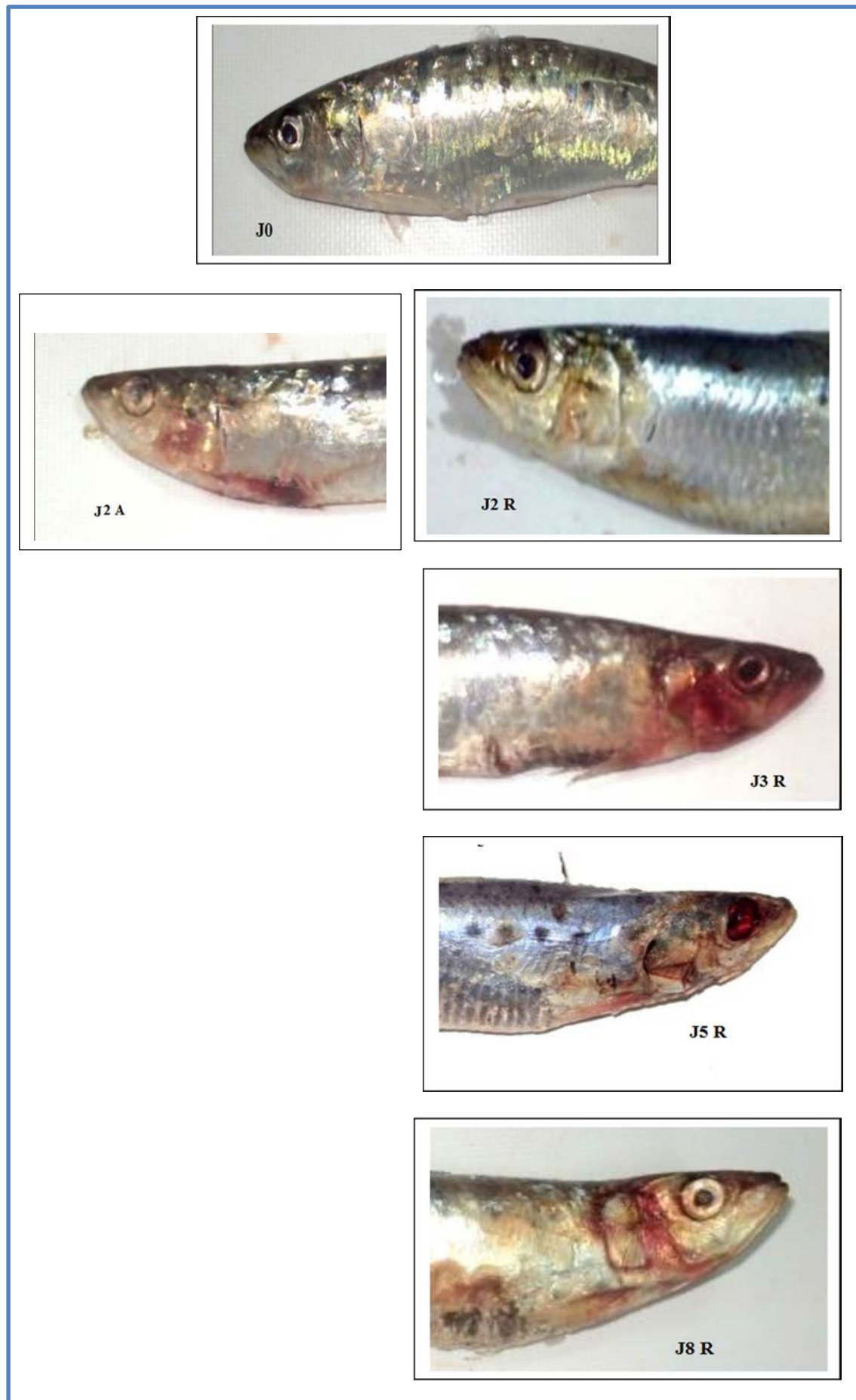
#### III.B.1. Analyses sensorielles

Arrivée au laboratoire, la sardine fraîche est caractérisée par un ventre argenté et un dos bleuté, un opercule strié, des taches sombres sur le dos, une carène ventrale peu aigüe et des écailles sessiles.

Durant les premières heures de conservation, la sardine est caractérisée par une fine odeur d'algues iodées. Le corps présente un aspect luisant et des écailles ancrées, avec présence d'un mucus transparent de consistance visqueuse. L'œil est de pupille noire brillante avec une cornée transparente. Les branchies sont moins coloré mâte. L'abdomen du poisson reste intact. Après ouverture du poisson, nous remarquons que les organes internes sont indemnes et restent bien différenciés. La chair est ferme et élastique avec une nette différenciation entre le muscle rouge et le muscle blanc.

A température ambiante, Après 24 heures (J2) de conservation, nous observons les premiers signes de la perte de qualité. En effet, la peau perd de sa brillance, de sa pigmentation et des plaques de sang apparaissent rapidement sous l'opercule et l'œil devient concave, l'odeur du poisson devient aigre et rance, Les viscères éclatent et leur contenu liquide se dissémine dans la chair lui procurant un aspect mou et pâteux, accélérant, ainsi, son altération.

Au réfrigérateur, la qualité sensorielle de la sardine (*S. pilchardus*) présente un retard d'environ 48 heures par rapport à celui observé chez la sardine conservée à température ambiante. À J2, la sardine préserve des qualités sensorielles acceptables et satisfaisantes. L'odeur du poisson devient forte à J3, répulsive et repoussante à J5 et J8. La peau, très terne, est pratiquement dépourvue d'écailles et est recouverte d'un mucus visqueux de couleur foncée à J5. A J8 la décoloration est très avancée. La peau est molle et pâteuse. A l'éviscération du poisson, les organes internes sont indifférenciés. Le poisson atteint son maximum d'altération et est au stade de putréfaction. En général, il faudrait inclure une détérioration par décomposition aussi bien à basse température qu'à température élevée. Les produits doivent présenter des caractéristiques normales quant aux odeurs, à la saveur, à l'apparence, à la texture, etc. (planche n° 1)



A : Température ambiante, R : Température à 4 °C

**Planche 1 : Aspect extérieur de la sardine pendant la conservation**

Le poisson subit immédiatement après sa mort un processus naturel de décomposition qui est le résultat de la superposition de réactions chimiques, enzymatiques et bactériennes (**Aubourg, 2005**). La conséquence en est une rapide altération des propriétés organoleptiques, une réduction de la valeur nutritive et la formation de substances toxiques.

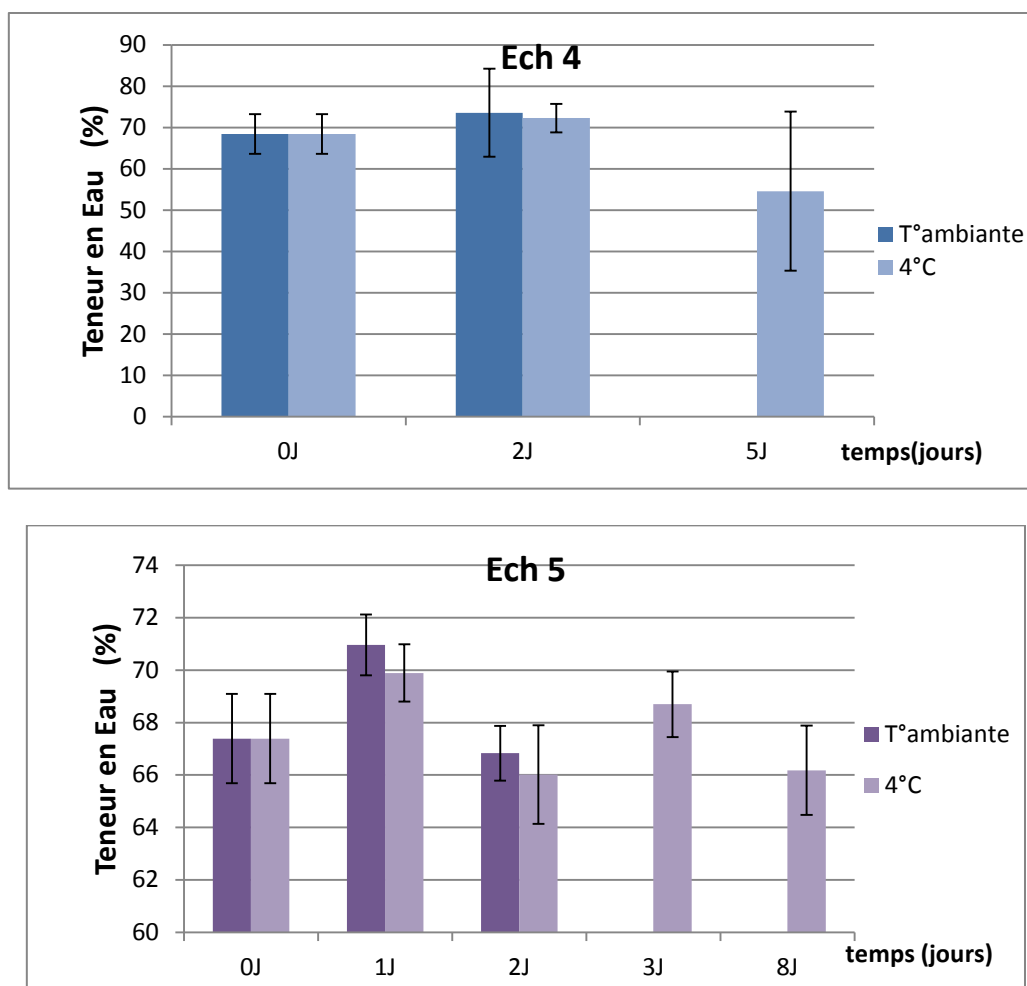
Chez les poissons, les modifications sensorielles interviennent très rapidement. La vitesse d'apparition des signes d'altération dépend de plusieurs facteurs à savoir l'espèce, la taille, la teneur en lipide, l'état physiologique à la capture, l'importance et la nature de la charge bactérienne et la température de conservation.

L'altération sensorielle s'accompagne par l'installation progressive d'odeurs désagréables. En effet, la sardine est un poisson gras, l'hydrolyse induite par les lipases et les phospholipases produit les acides gras qui sont très insaturés qui feront l'objet d'un rancissement oxydatif responsable de la production de composés de faibles poids moléculaire, cause de la flaveur désagréable de rancidité (**Burgueno, 2000**).

### III.B.2. Analyses physico-chimiques

Evolution des paramètres physicochimiques en fonction de la durée de conservation

La figure 10 illustre la variation des teneurs en eau en fonction de la durée de conservation à température ambiante et à 4°C pour l'échantillon 4 et 5 .

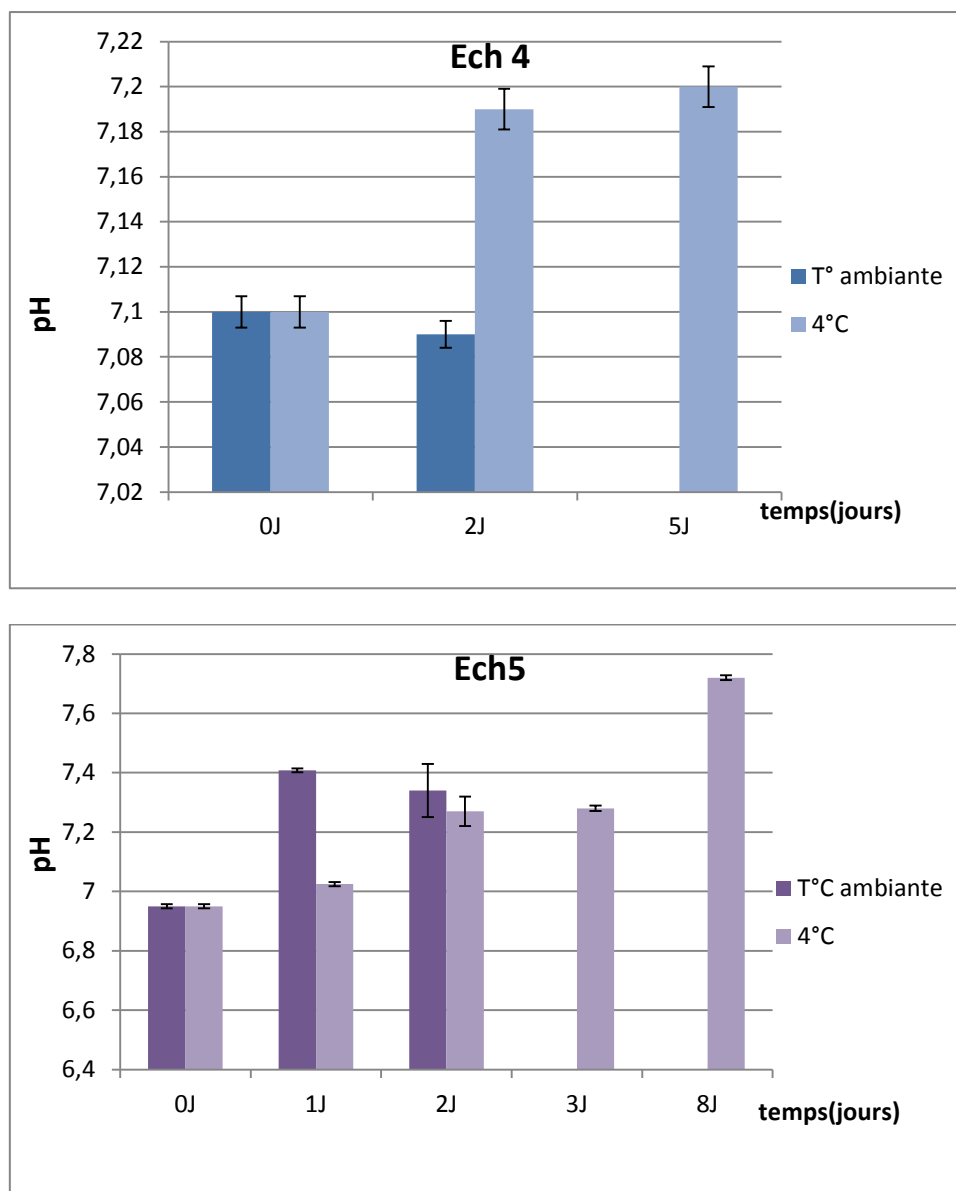


**Figure 10** : Evolution de la teneur en eau en fonction de la durée de conservation pour E4 et E5.

Les résultats montrent une faible perte en eau probablement due au fait que les membranes cytoplasmiques du tissu des poissons perdent leur rôle de barrière. De ce fait, l'accroissement de la concentration des solutés dans l'espace extracellulaire provoque la sortie de l'eau (osmose) puis son évaporation (Eymard, 2003). La capacité de rétention de l'eau est liée également à la capacité des Protéines myofibrillaires à conserver leur liaison avec l'H<sub>2</sub>O (Savage et al., 1990 ; Bremner, 2002).

De plus les poissons gras présentent une forte proportion de muscle brun. Or ce dernier peut rétrécir jusqu'à 52 % alors que le muscle blanc ne perd que 15 % de sa longueur (Penfield & Campbell, 1990).

Les variations du pH des échantillons conservés à température ambiante et à 4°C sont présentées par la figure 11.



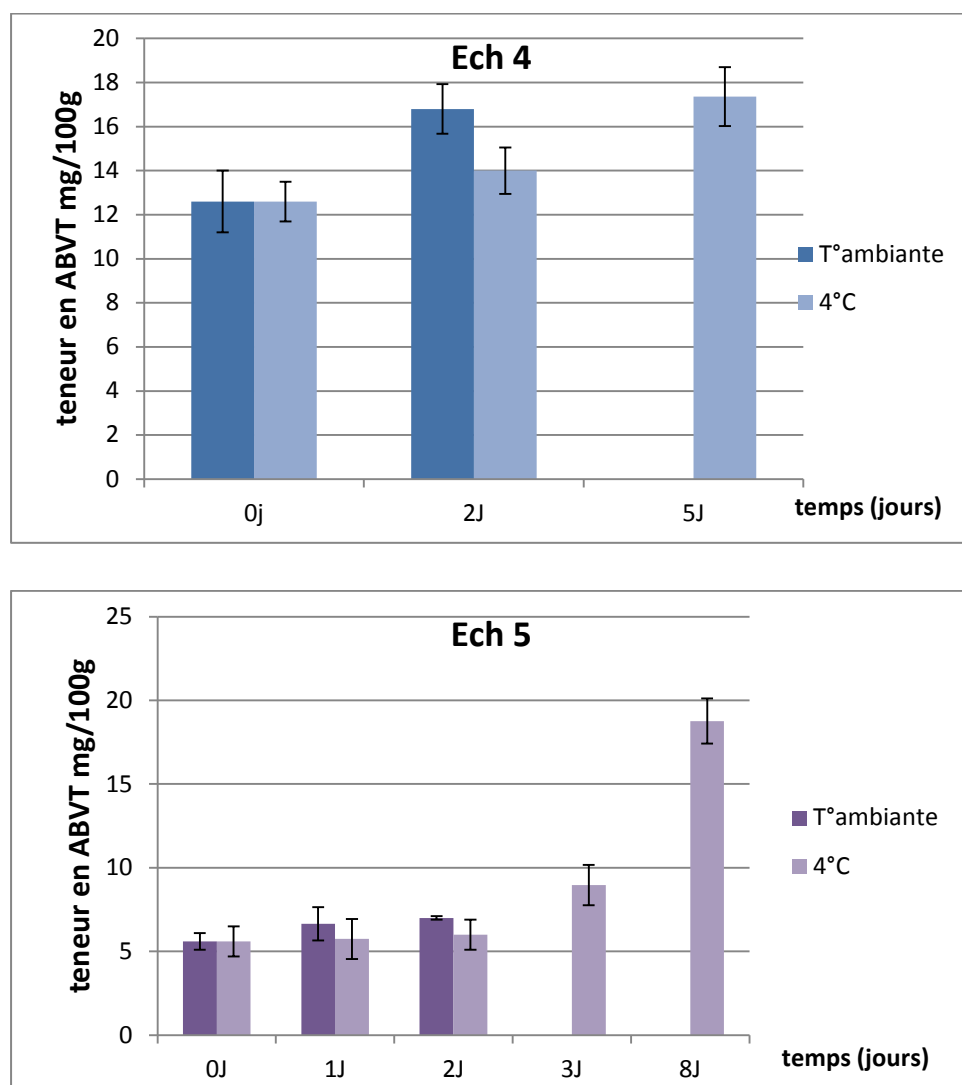
**Figure 11:** Variation du pH des échantillons conservés à température ambiante et à 4°C pour E4 et E5.

D'après la figure 12, on remarque que le pH des deux lots ne cesse d'augmenter durant la conservation des échantillons sous les deux températures examinées.

Ainsi, à température de 4°C la valeur de pH augmente et reste en hausse jusqu'au huitième jour pour atteindre une valeur de 7,72.

L'augmentation du pH mesurée chez la sardine s'explique probablement par la production de bases volatiles ( $\text{NH}_3$  l'ammoniac, la diméthylamine DMA, la triméthylamine TMA) et par l'accumulation de peptides et d'amines dans le muscle (El Marrakchi *et al.*, 1990).

La figure 12 illustre la variation des teneurs en ABVT en fonction de la durée de conservation à température ambiante et à 4°C pour l'échantillons 4 et 5 .



**Figure 12:** Evolution des teneurs en ABVT en fonction de la durée de conservation pour E4 et E5.

De même, pour l'ABVT, les teneurs augmentent pendant toute la durée de conservation sous les deux températures testées.

Sous l'effet de la température ambiante la concentration en ABVT était supérieure à celles mesurée à une température de 4°C. Les températures élevées favorisent l'altération des produits de la mer et l'autolyse de ces derniers.

Les sources de variation de la teneur en ABVT sont multiples et agissent à différents niveaux. Certains facteurs influent sur la quantité de précurseurs des amines volatiles (notamment sur l'oxyde de triméthylamine OTMA). Initialement présents tandis que d'autres influencent la réaction de formation de ces amines.

### III.B.3. Résultats des analyses biochimiques

Le constat général du traitement des résultats des dosages biochimiques du glucose et des protéines dans les différents organes de la sardine (*S. pilchardus*) est une diminution des teneurs protéiniques au niveau de la chair surtout avec le foie et l'intestin pour les deux échantillons traités et ceci bien clairement sous la conservation à 4°C. Les réserves en glucoses de leur part montraient des teneurs plus au moins stables durant toute la période de stockage surtout pour l'échantillon E5 à 4°C.

Nonobstant les résultats de mesures des réserves énergétiques au niveau des différents organes de la sardine semblent difficilement interprétables et discutables.

Par ailleurs, le suivi des teneurs en glucose et protéines dans le liquide issu de hydrolyse de la sardine montrait une augmentation des concentrations (E5) et ceci à température ambiante comme à 4°C.

Le résultat obtenu peut être expliqué par la diminution de la qualité de produit qui perd ses constituants biochimiques sous l'effet des différents processus d'hydrolyse et d'altération chimiques, enzymatiques et bactérien.

**Tableau VII** : Résultats du dosage de glucose durant la période de conservation pour E4

| <b>E4 Glucose (mg/g) à (T °amb)</b> | <b>0j</b> | <b>2j</b>        |
|-------------------------------------|-----------|------------------|
| <b>Branchies</b>                    | 0,927     | 2,019<br>± 0,73  |
| <b>Chaire</b>                       | 0,680     | 3,22<br>± 0,131  |
| <b>Foie</b>                         | 0,853     | 2,435<br>± 0,148 |
| <b>Intestin</b>                     | 1,190     | 1,584<br>± 0,328 |
| <b>Liquide</b>                      | -         | -                |

| <b>E4 Glucose (mg/g) à (4°C)</b> | <b>0j</b> | <b>2j</b>       | <b>5j</b> |
|----------------------------------|-----------|-----------------|-----------|
| <b>Branchies</b>                 | 0,927     | 12,13<br>± 2,19 | 1,03      |
| <b>Chaire</b>                    | 0,680     | 15,01<br>± 3,66 | 2,86-     |
| <b>Foie</b>                      | 0,853     | 19,47<br>± 0,09 | 1,42      |
| <b>Intestin</b>                  | 1,190     | 8,41<br>± 2,63  | 1,45      |
| <b>Liquide</b>                   | -         | 24,99<br>± 2,19 | -         |

**Tableau VIII** : Résultats du dosage de protéine durant la période de conservation pour E4

| <b>E4 Protéine (mg/g) à (T °amb)</b> | <b>0j</b> | <b>2j</b>        |
|--------------------------------------|-----------|------------------|
| <b>Branchies</b>                     | 25,75     | 52,07<br>± 8,37  |
| <b>Chaire</b>                        | 90,50     | 73,67<br>± 9,009 |
| <b>Foie</b>                          | 28,25     | 62,25<br>± 4,462 |
| <b>Intestin</b>                      | 40,74     | 68,24<br>± 31,41 |
| <b>Liquide</b>                       | -         | -                |



| <b>E4</b><br><b>Protéine (mg/g) à</b><br><b>4°C</b> | <b>0j</b> | <b>2j</b>         | <b>5j</b>        |
|---|-----------|-------------------|------------------|
| <b>Branchies</b>                                    | 25,75     | 41,30<br>± 1,74   | 23,13<br>± 13,93 |
| <b>Chaire</b>                                       | 90,50     | 57,85<br>± 10,30  | 18,26<br>± 9,169 |
| <b>Foie</b>   | 28,25     | 67,02<br>± 12,88  | 53,27<br>± 4,75  |
| <b>Intestin</b>                                     | 40,74     | 67,256<br>± 3,012 | 1,22<br>± 0,25   |
| <b>Liquide</b>                                      | –         | 122,87<br>± 14,90 | -                |

**Tableau VIII** : Résultats du dosage de glucose durant la période de conservation pour E5

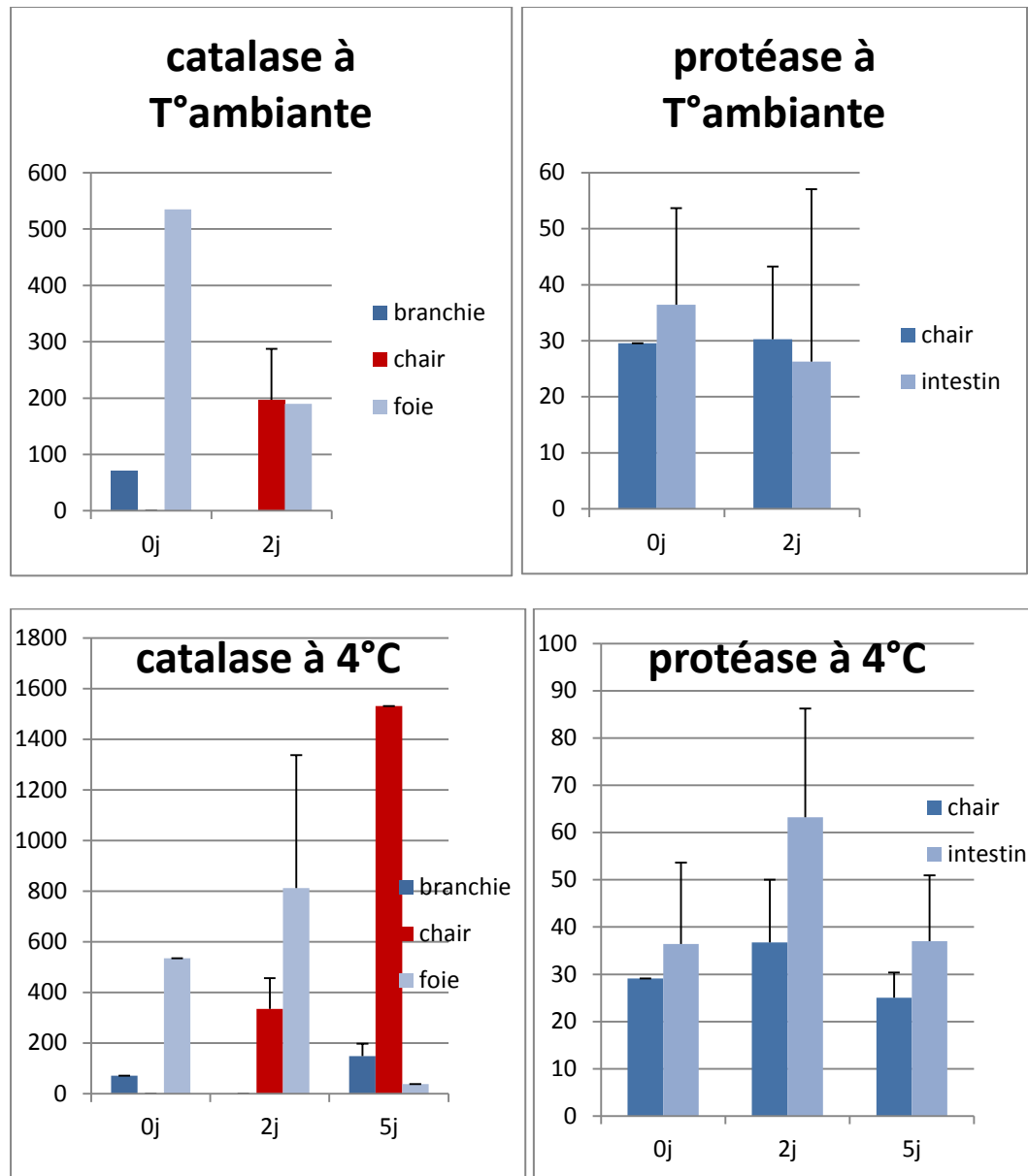
| <b>E5</b><br><b>Glucose (mg/g)</b><br><b>(T° amb)</b> | <b>0j</b>        | <b>1j</b>        | <b>2j</b>         |
|---|------------------|------------------|-------------------|
| <b>Branchies</b>                                      | 1,950<br>± 0,679 | 1,226<br>± 0,918 | 3,676<br>± 0,098  |
| <b>Chaire0.</b><br><b>0</b>                           | 2,205<br>± 0,919 | 3,693<br>± 1,74  | 9,408<br>± 2,012  |
| <b>Foie</b>   | 4,938<br>± 1,611 | 4,762<br>± 2,635 | 1,741<br>± 1,871  |
| <b>Intestin</b>                                       | 1,953<br>± 1,898 | 1,325<br>± 1,060 | 2,422<br>± 0,856  |
| <b>Liquide</b>  | –                | 3,801<br>± 0,680 | 22,433<br>± 0,493 |

| <b>E5</b><br><b>Glucose</b><br><b>(mg/g) (4°C)</b> | <b>0j</b>        | <b>1j</b>        | <b>2j</b>        | <b>3j</b>        | <b>8j</b>         |
|--|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
| <b>Branchies</b>                                   | 1,950<br>± 0,679 | 3,584<br>± 0,994 | 1,107<br>± 0,553 | 1,154<br>± 0,759 | 1,192<br>± 0,021  |
| <b>Chaire</b>                                      | 2,205<br>± 0,919 | 4,798<br>± 2,182 | 3,207<br>± 0,810 | 0,050<br>± 0,062 | 2,665<br>± 0,846  |
| <b>Foie</b>  | 4,938<br>± 1,611 | 4,993<br>± 0,202 | 5,936<br>± 1,243 | 7,443<br>± 0,239 | 3,071<br>± 0,887  |
| <b>Intestin</b>                                    | 1,953<br>± 1,898 | 1,467<br>± 0,557 | 2,267<br>± 0,867 | 4,430<br>± 4,081 | 0,808<br>± 0,263  |
| <b>Liquide</b>                                     | –                | 5,570<br>± 2,276 | 8,024<br>± 1,570 | 9,229<br>± 2,977 | 12,436<br>± 9,889 |

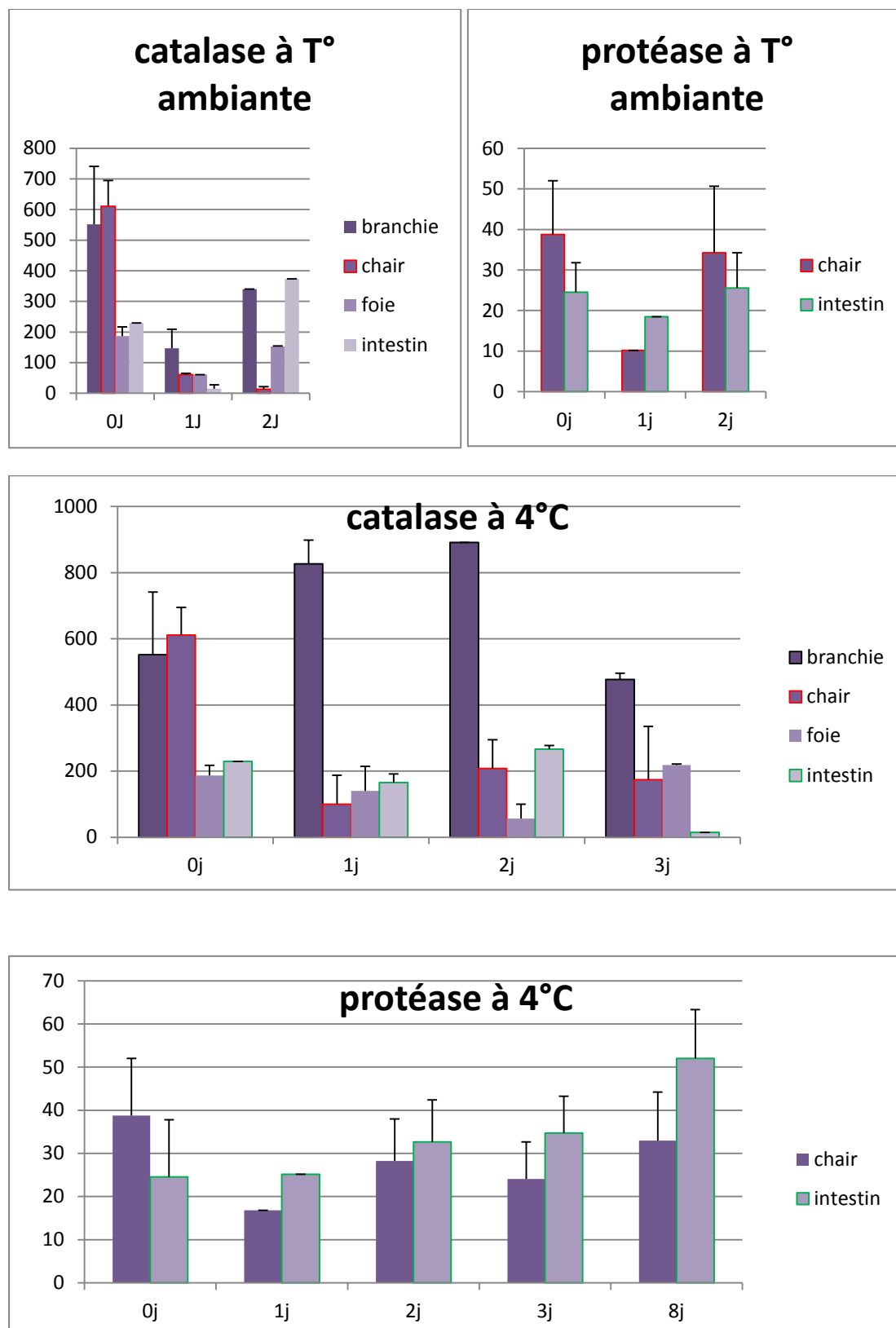
**Tableau X** : Résultats du dosage de protéines durant la période de conservation pour E5

| E5 Protéine (T°amb) (mg/g) | 0j                | 1j                  | 2j                  |
|----------------------------|-------------------|---------------------|---------------------|
| <b>Branchies</b>           | 29,758<br>± 1,345 | 119,162<br>± 28,439 | 55,263<br>± 4,119   |
| <b>Chaire</b>              | 62,055<br>± 1,546 | 140,209<br>± 28,696 | 79,754<br>± 13,44   |
| <b>Foie</b>                | 102,36<br>± 7,603 | 128,715<br>± 31,167 | 54,197<br>± 11,081  |
| <b>Intestin</b>            | 66,165<br>± 5,018 | 127,565<br>± 30,109 | 66,499<br>± 0,659   |
| <b>Liquide</b>             |                   | 109,755<br>± 24,521 | 153,942<br>± 43,402 |

| E5 Protéine (mg/g) (4°C) | 0j                | 1j                  | 2j                 | 3j                 | 8j                 |
|--------------------------|-------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| <b>Branchies</b>         | 29,758<br>± 1,345 | 139,803<br>± 54,74  | 43,561<br>± 4,568  | 42,436<br>± 5,960  | 32,284<br>± 1,258  |
| <b>Chaire</b>            | 62,055<br>± 1,546 | 119,015<br>± 37,486 | 72,756<br>± 7,163  | 47,004<br>± 9,062  | 36,247<br>± 0,09   |
| <b>Foie</b>              | 102,36<br>± 7,603 | 112,394<br>± 28,647 | 86,359<br>± 2,396  | 59,412<br>± 3,771  | 28,355<br>± 16,519 |
| <b>Intestin</b>          | 66,165<br>± 5,018 | 105,202<br>± 27,293 | 48,897<br>± 2,101  | 43,994<br>± 1,034  | 35,037<br>± 2,773  |
| <b>Liquide</b>           | –                 | 113,282<br>± 29,290 | 125,479<br>± 8,204 | 117,71<br>± 32,916 | 113,62<br>± 10,657 |



**Figure 13** : Résultats du dosage des protéines/ catalase durant la période de conservation pour E4



**Figure 14:** Résultats du dosage des protéines/ catalase durant la période de conservation pour E5

Le dosage de l'enzyme antioxydante Catalase a mis en évidence de fortes augmentations dans l'activité de l'enzyme mesurée au niveau de chaque organe et sous l'effet des deux températures testées et ceci pour les deux échantillons (E4 et E5).

La stabilité du muscle vis-à-vis de l'oxydation dépend de la localisation, de la composition, de la concentration et de la réactivité de trois facteurs : les substrats et les catalyseurs de l'oxydation et les antioxydants (**Decker et Xu, 1998**). Au niveau des tissus vivants, il existe des mécanismes naturels de contrôle de l'oxydation afin de prévenir la destruction oxydative des lipides membranaires, des protéines et des acides nucléiques. Ainsi, il existe une régulation des systèmes prooxydants et antioxydants qui permettent de maintenir la balance entre les facteurs impliqués dans la réaction d'oxydation. La régulation des facteurs pro et antioxydants est perturbée à la mort des poissons et durant le stockage et la transformation des muscles. Ce dérèglement induit des changements des propriétés biochimiques du muscle (**Hultin, 1994**). Ces modifications sont caractérisées notamment par une augmentation de la teneur en fer libre (**Decker et Hultin, 1990**), une activation des protéines hémiques (**Kanner et al, 1987**), la dégradation des membranes (**Huang, 1993**). Ces différents facteurs favorisent le développement des réactions d'oxydation qui induisent la dégradation des propriétés biochimiques, organoleptiques et nutritionnelles de l'aliment (**Frankel, 1998**). La phase d'initiation de l'oxydation peut être déclenchée par plusieurs facteurs : les formes activées de l'oxygène, les enzymes, la chaleur...

Les produits de la mer sont des denrées très périssables et nécessitent une rapide réfrigération afin de limiter leur altération. Il est donc recommandé de les consommer et de les transformer rapidement après capture afin de limiter le développement bactérien et l'apparition d'odeur désagréable sous l'effet des différents processus d'altération autolytique. Leur durée de vie varie en fonction des espèces considérées et dépend de la température de conservation et de l'état initial du poisson.

Concernant la protéase, cette dernière a montré des augmentations suivies d'une diminution de leur activité (E4 à 4°C) et une stabilité de son activité (E4 à température ambiante, et E5 à 4°C). pas de corrélations

Généralement, il existe deux types d'altération du poisson : bactérienne et enzymatique. Dans certaines espèces de poisson, les altérations enzymatiques

précèdent et par conséquent dominant la détérioration du poisson réfrigéré. Chez d'autres espèces, l'autolyse contribue, à des degrés différents, à l'altération de la qualité et s'ajoute au processus de dégradation microbienne.

Les cathepsines sont des protéases acides habituellement rassemblées dans des organites appelées lysosomes. Dans le tissu vivant, les protéases lysosomiques sont responsables de la dégradation des protéines aux endroits lésés. Les cathepsines sont pour la plupart inactives dans les tissus vivants mais sont libérées dans les jus de cellules à la suite d'accidents physiques ou de congélation-décongélation post mortem du muscle. Les cathepsines jouent un rôle majeur dans la dégradation auto-lytique des tissus du poisson du fait qu'elles ont une plage d'activité étroite de pH bien trop basse (**francois,2011**).

Un second groupe de protéases intracellulaires appelées « calpaine » ou « calcium activated factor » (CAF) a été associé à l'autolyse du muscle du poisson. La plupart des calpaines sont actives au pH physiologique et il paraît donc raisonnable de suspecter leur importance dans le ramollissement du poisson pendant la conservation au froid. Le ramollissement par autolyse est un sérieux problème diminuant la valeur commerciale du poisson (**francois, 2011**).

### III.B.3. Résultats des analyses microbiologiques

Les résultats du suivi de la qualité bactériologique de la chair des deux échantillons de la sardine ainsi que le liquide issu de l'hydrolyse de cette dernière durant la conservation à température ambiante et à 4°C sont illustrés dans les figures ci-dessous.

#### Les échantillons de conservations

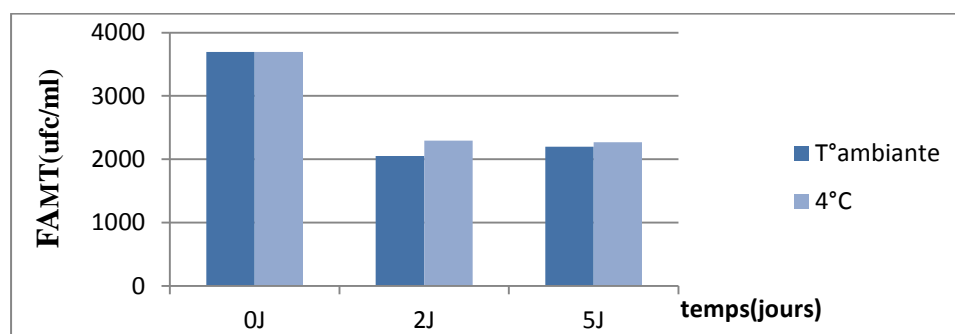
##### ❖ La flore psychrophile

L'ensemble des résultats obtenus à une température ambiante et de 4°C montrent une absence totale de la flore psychrophile pour chair et liquide

##### ❖ La flore aérobie mésophile totale

- Le tableau récapitule les Résultats obtenus de la flore mésophile totales de sardine conservée à une température ambiante et 4°C°

#### La chair



#### Le liquide

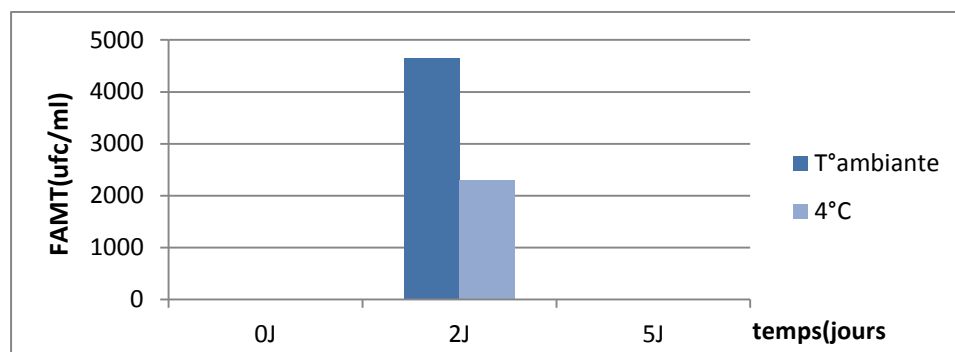


Figure15 : Résultat des analyses microbiologique durant la période de conservation pour E4

La numérotation des germes totaux chez la sardine fraiche donne une valeur initiale d'unité formant une colonie de  $3,69 \cdot 10^3$  ufc/ml.

A température ambiante on observe une diminution accéléré à partir de 2j (2050 ufc/ml) ; au bout de 3j augmente progressivement pour atteindre une valeur de 2200 ufc/ml.

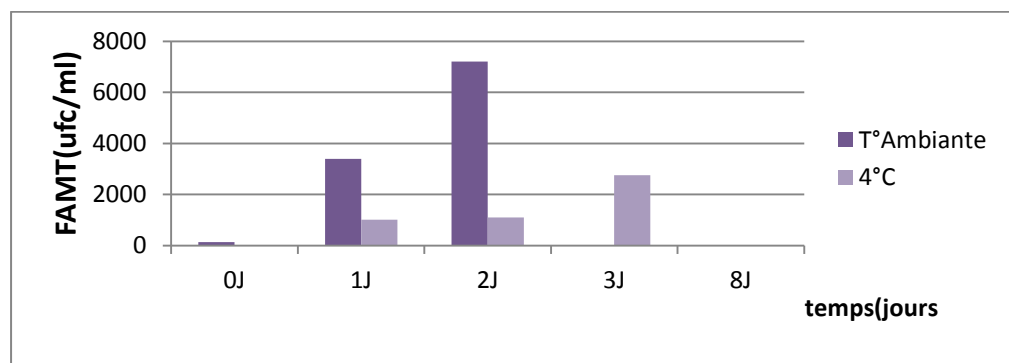
Au mode réfrigéré emprunte même voix que à température ambiante diminution a 2j ; reste diminue jusqu' à la fin de l'expérience à une valeur 2268 ufc/ml.

### Pour le liquide

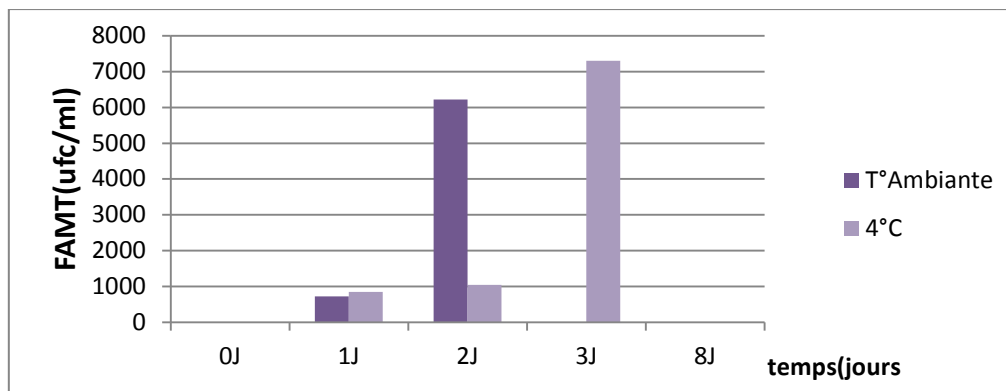
A température ambiante nous notons une valeur très élevés à partir de 2j (4645 ufc/ml) pour atteindre une valeur indécombrable en fin expérimentation,

A 4°C l'échantillon de poisson subissent plus au moins le même cheminement avec une valeur inférieure qu'en mode ambiant.

### La chaire



### Le liquide



**Figure16 : Résultat des analyses microbiologique durant la période de conservation pour E5**



Nous remarquons que les flores aérobies mésophile total sont présentes dès le début d'expérience avec une taux faible 140ufc/ml

A température ambiante nous assistons à une accélération continue et régulière pour atteindre une valeur maximale 7200 ufc/ml

A 4°C on notons une accélération jusqu'à 2j de conservation ;la croissance augmente à nouveau progressivement jusqu'à 3j ou une notons une forte accélération qui persiste jusqu'à la fin d'expérience a une valeur indénombrable .

#### **Pour le liquide :**

On estime une accélération rapide à une valeur maximal 6220ufc/ml pour le mode ambiant, au réfrigérateur ont enregistré une croissance rapide au début jusqu'à la fin d'expérience.

#### **Discussion**

L'étude a montré la présence de Coliformes Totaux et Fécaux,clostridium, de *Salmonelle* spp., Ces bactéries sont des pathogènes souvent associés à des altérations qui se produisent après la pêche (**Wogu et al., 2010**). Cette constatation est en accord avec les résultats de **Gram et Huss (2001)**, qui ont rapporté que ces micro-organismes sont les causes majeures de l'altération microbienne des produits halieutiques

Après la capture. La présence des *Enterobacteriaceae* est un signe de contamination qui survient lorsque les mesures hygiéniques lors de la conservation, du lavage ou de l'éviscération des produits de la pêche sont absentes (**Zamboutchini et al.,2008**).

Le dénombrement de la Flore Aérobie Mésophile Totale dans les produits de la mer n'est pas un indicateur de la qualité de ces derniers. Cependant, il peut donner une indication des risques d'altération. Ainsi il a été démontré que les produits de la pêche avec un taux de Flore Aérobie Mésophile Totale supérieur à 106 ufc/g sont susceptibles d'être à un stade inacceptable du point de vue microbiologique et peuvent être considérés comme impropres à la consommation humaine (**Gram et al., 2000**).

La présence des coliformes totaux et fécaux peut indiquer la présence d'autres micro-organismes nocifs et pathogènes dans les prélèvements tels que *Salmonella* sp.

(**Abu hena et al., 2008**). Cette constatation est en accord avec les résultats obtenus dans notre étude qui ont corroboré la corrélation entre la présence des coliformes totaux et fécaux et les salmonelles (*Salmonella* spp.).

Les *Clostridium* Sulfito Réducteurs peut provenir de l'environnement aquatique. En revanche, les salmonelles et les coliformes fécaux sont introduits par la manipulation humaine (**SCOGING, 2003**). Les coliformes fécaux permettent de déceler une contamination à travers des mains sales une infection du nez, de la peau ou de la gorge. *Salmonella* est rarement présente dans les produits de la mer et indique un défaut d'hygiène.

# **CONCLUSION**

### CONCLUSION ET REFERANCE

#### Conclusion

La présente étude apporte des informations importantes sur les changements sensoriels, biochimiques et microbiologiques intervenant lors de la conservation de la sardine (*S. pilchardus*) en fonction de la durée et de la température.

En conclusion, Le poisson est un système dynamique dans lequel les changements arrivent dans la teneur en eau, le pH, la composition nutritive et la microflore au fil du temps. La croissance et le métabolisme de microorganismes sont les éléments impliqués dans la manifestation de l'altération sensorielle du produit le rendant peu convenable pour la consommation humaine.

La réfrigération a montré un ralentissement de la dégradation autolytique, l'hydrolyse, la modification du profil protéique et l'altération microbiologique.

L'estimation chimique de certains métabolites peut être utilisée comme des indices de qualité, comparée à des méthodes microbiologiques, longues et coûteuses. Ces indices de qualité incluent l'estimation de l'azote volatil total, TMA, la transformation de glucose, la dégradation des protéines, ces derniers Sont représentatifs qu'en combinant plusieurs métabolites , des propriétés sensorielles et l'analyse microbiologique. L'estimation de la FMAT et les coliformes totaux et fécaux nous renseignent sur l'état hygiénique de l'échantillon. La recherche de germes pathogènes dans nos échantillons nous a révélé leur présence due certainement à un défaut d'hygiène tout au long de la filière de pêche.

Il serait intéressant de se baser sur des dosages de métabolites qui se manifestent sur l'aspect organoleptique et seront plus facilement perçus par les consommateurs. Le but de ces travaux vise de proposer des combinaisons faciles à réaliser, peu onéreuses et rapides pour l'évaluation du niveau d'altération des produits de la pêche: en se basant sur les résultats enregistrés lors de la présente étude nous pouvons proposer la combinaison incluant l'analyse sensorielle, l'ABVT et une estimation de la charge microbienne.

- Pour compléter cette étude, il serait intéressant de:
- ✓ Utilisation d'autres espèces méditerranéennes aux tests de conservation et test biomarqueurs ;
- ✓ Etudier le rôle des microorganismes dans la dégradation des phospholipides ;
- ✓ Test de conservation en sous vide.

**REFERENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**

## CONCLUSION ET REFERANCE

---

### REFERANCE

- Abuhena,M.Y., Kawser Ahmed,M.D.,Yeasmin,S.,Nazmul,A.Mujiburrahman, M.D.&Monirulislam,M.D.(2008).**Prevalence Of Microbial Loadin shrimp, *Penaeusmonodon*and prawn,*Macrobrachium rosenbergii* from Bangladesh.*World J. Agric. Sci.*,4(S),852-855.
- **Afnor., 1992.** Qualité de l'eau. Recueil de normes françaises environnement 861 P.
  - **Afnor., 2003.** Analyse chimique et biologique : analyses microbiologiques. Recueil norme environnement. Tome 4. Afnor. 6<sup>eme</sup> édition, 695 p.
  - **Aksnes, A. and B. Brekken (1988).** Tissue degradation, amino acid liberation and bacterial decomposition of bulk stored capelin,*John Wiley& Sons,Ltd.*45:53-60.
  - **Almeidaa J.A., Dinizb Y.S., Marquesa S.F.G., Faineb L.A., Ribasc B.O., Burneikob R.C., Novellib E.L.B., 2002.** The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromisniloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination. *Environment International* 27, 673–679, Elsevier.67: 2833-2836.
  - **Amiard Jean-Claude., Claude Amiard-Triquet., 2008.** Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques. Edition Tec et Doc Lavoisier. ISBN : 978-2-7430-1017-1.
  - **Ana Rosa Linde-Arias., Alan F. Inácio., Carla de Alburquerque., Marina M. Freire., Josino C. Moreira., 2008.** Biomarkers in an invasive fish species, *Oreochromisniloticus*, to assess the effects of pollution in a highly degraded Brazilian River. *Science of the total environment* 399, 186 – 192. Elsevier.
  - **Barillet., 2007.** Toxicocinétique, toxicité chimique et radiologique de l'uranium chez le poisson zebre (*daniorerio*). Thèse de doctorat, université Paul Verlaine de Metz, 475p.96
  - **Benmoukhtar R., 2000.** Contrôle de qualité, metrise des techniques d'analyses microbiologique et chimique. Programme boursier Algéro-Française. Année 2000-2001. 46 p.
  - **Berkel Maas-Van, B.,Van Den Boogaard,B.,Heijnen, C., 2004.** La conservation du poisson et de a viande .*Agrodok n°12, Paris.*90p
  - **BISEAU, A., DUHAMEL, E., DANZART ,M.,2006.**Analyse de la pêcheerie des petites pélagiques ,sardines et anchois dans le golfe de Gascogne du 13 septembre au 13 décembre 2004.rapport de stage IFREMER.81p.
  - **Blandin P., 1986.** Bioindicateur et diagnostique des systèmes écologiques. *Bull. Ecol* 17, 215-307.

## CONCLUSION ET REFERANCE

---

- **Bonnefis, J., Pathe, M Nardo, V., 2010.** Le mode sous-marin du plongeur biologiste en méditerranée : étymologie des noms et des termes ,présentation des embranchements, identification et classification des principales espèces.paris.320p.
- **Botta, J.R., K.M. Kennedy, W. Kiceniuk, and J. Legrow(1992).** Importance of redfeed level, fish size and roe content to the quality of roe capelin. International Journal of Food Science & Technology 27(1): 93-98.
- **Boulay C., 1999.** Intoxications histaminiques: poissons en cause, conditions de survenue et mécanismes pathogéniques actuellement connus. Thèse de doctorat. Ecole nationale de vétérinaire de Nantes.122p.
- **BRAHIMI, B., DJABALI, F., MAMMASSE, M., 1993.** poisson des côtes Algériennes. Bulletin de l'Istitut des Science de la Mer et de l'Aménagement du littoral. ISMAL.
- **Bremner, H.A. and IC. Hallett (1985).** Muscle fiber-connective tissue junctions in the blue grenadier (*Macrurus novaezelandiae*). Journal of Food Science 50: 975-980.
- **Cillard J. & Cillard P., 2006.** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. Oléagineux, Corps gras, Lipides, 13 (1): 24-29.
- **Dalarras 1989 :** Surveillance du milieu naturel et de ses ressources. Contrôle bactériologique des analyses séchées et des algues micronisé. Biopédagog, 1989, 4, pp : 28-36.
- **DE KONING et H MOL, 1991** (intérêt nutritionnel de la sardine fraiche pêchée en mer méditerranée. Information communiquée par l'office Régional de la mer KONNING A ,J,H MOL T.)
- **Decker, E.A. and H.O. Hultin (1990).** Nonenzymic Catalysts of Lipid Oxidation in Mackerel Ordinary Muscle. Journal of Food Science 55(4): 951-953.
- **Decker, E.A. and Z.Xu (1998).** Minimizing rancidity in muscle food. Food technology 52: 54-61
- **Diop M.B., 2008.** Sélection et caractérisation de souches bactériennes aptes à améliorer la technique de conservation du poisson par salaison au Sénégal, Thèse de Doctorat, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, Belgique. 213p.
- **Direction de la Pêche et des ressources Halieutiques (DPRH) ,2014.** Statistiques de pêche du port d'Alger.

## CONCLUSION ET REFERANCE

---

- **Djabali,F.et Mouhoub, R., 1989** . Reproduction de la sardine (*Sardina pilchardus*, Walbaum,1972) de a région d' Alger .PELAGOS ,*bull. Ismal.*,vol.4(1) :29-31p.
- **DUMAY, J., 2006**. Extraction de lipides en voies aqueuse par bioréacteur enzymatique combine à l'ultrafiltration application à la valorisation de co-produits de poisson (*sardina pilchardus*,Walbaum, 1792)Thèse de doctorat . Université de Nante .
- **F.A.O., 2009**. Assurance de qualité dans les produits de mer. In: Huss H.H. (Ed.), FAO Fisheries Technical Paper No. 334. Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome, Italy.
- **-F.A.O., 2010a**.Fish and fishery products: world apparent consumption statistics based on food balance sheets. FAO Yearbook 2008. Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome, Italy. pp. 215-219.
- **-F.A.O., 2010b**. Capture production. FAO Yearbook 2008. Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome, Italy. pp. 28-30
- **Fisher W., Bauchot, M-L. Schneider, M., 1987**..Identification des espèces pour le besoin de la pêche. Méditerranée et mer noire. Zone de pêche 37.Fiche F.A.O., réversion 1,Vol2, faoEdition, Rome, Tome 1 et 2.761-1530p.
- **FOREST A ., 2001**. Ressources halieutiques hors quotas du nord est atlantique : bilan tome 2 :215p France .284pe .
- **Frankel, E.N. (1998)**. Lipid oxidation. The Oily Press (vol. 10).Dundee, Scotland
- **Guiraud J.P ; 1998**. Microbiologie alimentaire.Paris. Edition Dunod. 652 p.
- **Gülüzar A., Ozlem A., Seyhan T., Mustapha C., 2006**. Response of catalase activity to  $Ag^+$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cr^{6+}$ ,  $Cu^{2+}$  and  $Zn^{2+}$  in five tissues of freshwater *Oreochromis niloticus*.Comparative Biochemistry and Physiology 143, 218-224. Elsevier.
- **Haard, N. (2002)**. The role of enzymes in determining seafood color, flavor and texture.In:Safety and quality issues in fish processingH.A.Bremner. Cambridge, UK,Woodhead Publishing in Food Science and Technology:221-254
- **Hachette., 1996** Chronologie des principales sources de pollution des eaux continentales dans les pays industrialisés, d'après C. Lévêque, Écosystèmes aquatiques.
- **Horrocks LA, Yeo YK, 1999**. Health benefits of docosahexaenoic acid (ADH). Pharmacol ResSeptember;40(3):211-25.\*\***Larsson SC, Kumlin M, Ingelman-**



## CONCLUSION ET REFERANCE

---

- Sundberg M, Wolk A, 2004.** Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. *Am J Clin Nutr* June. 79(6):935-45.
- **Huang, C.H., H.O. Hultin, and S.S. Jafar(1993).** Some aspects of iron(2+) catalyzed oxidation of fish sarcoplasmic reticular lipid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41(11): 1886-1892.
  - **Hultin, H.O. (1994).** Oxidation of lipids in seafoods. *Seafoods: Chemistry, Processing, Technology and Quality*. Shahidi, F. & Botta, J.R. (Eds), Blackie Academic & Professional. New York: 49-74.
  - **Huss et al., 1974 :** The influence of hygiene in catch handling on the storage life of iced cod and plaice. *J. Food Technol*, 9, 213-221).
  - **Huss HH., 1999 :** Qualité et son évolution dans le poisson frais. Laboratoire de technologie Ministère de l'agriculture et des pêches Danemark .F.A.O. Document technique sur les pêches -348 FAO. L'organisation des Nations Unies pour L'Alimentation et l'Agriculture : 17, 213-334).
  - **Ifremer Octobre 2008** Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer.-v1 – Fiche réalisée pour Bibliomer et le centre de veille des produits aquatiques
  - **Journal officiel de la république algérienne démocratique et populaire au 27 mai 1998 N° 35 37 Ème année conventions et accords internationaux.** Lois et décrets arrêtées, décisions, avis, communications et annonces.
  - **kanner, J., J.B. German, J.E. Kinsella, and H.O. Hultin (1987).** Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 25(4): 317-364.
  - **Karakoltsidis P.A., Zotos A. &Constantinides S.M., 1995.** Composition of the commercially important Mediterranean finfish, Crustaceans and Molluscs. *Journal of Food Composition and Analysis*, 8: 258-273.
  - **Lagadic Laurent., Caquet Thierry., Amiard Jean-Claude., Ramade François., 1998.** Utilisation des Biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. Edition Tec et Doc Lavoisier Paris, ISBN : 2-7430-0230-1.
  - **Lagadic Laurent., Caquet Thierry., Amiard Jean-Claude., Ramade François., 1997.** Biomarequers en écotoxicologie, Aspects fondamentaux. Edition Masson, Paris, ISBN : 2-225-83053-3 ; ISSN :1275-0026..
  - **Lecointre,G. et le Guyader,H.,2002.** La classification phylogénétique du vivant .2ème édition .paris :Edition Belin .France .543p.

## CONCLUSION ET REFERANCE

---

- **Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr N.J., Randall R.J., 1951.** Protein measurements with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem* 193, 265–275.
- **M.D.&Monirulislam,M.D.(2008).**Prevalence Of Microbial Load in shrimp,*Penaeus monodon* and prawn,*Macrobrachium rosenbergii* from Bangladesh.*World J. Agric. Sci.*,4(S),852-855
- **M.P.R.H., 2003.** Informations sur l'aménagement des pêches dans la République Algérienne Démocratique.
- **M.P.R.H., 2006.** Les statistiques des pêches. Rapport du Ministère de la pêche et des ressources halieutiques. ISBN: 9947-0-1427-4.
- **Macciola V, 2004.**A study on the lipid fraction of Adriatic sardine filets (*Sardina pilchardus*). *Nahrung* June.48(3):209-12.
- **Medale F., 2005.**Caractéristiques nutritionnelles des poissons et facteurs de variations.*Aquaculture*,79:87-93
- **Mouhoub,R., 1986 .** contribution à l'étude de la biologie et de la biologie et de la dynamique de la population exploitée de la sardine (*sardina pilchardus* , walbaum , 1976) des côtes algéroises .Thèse de magistère.USTHB.alger.163p.
- **Murata M, Sano Y, Bannai S, Ishihara K, Matsushima R,Uchida M, 2004.** Fish protein stimulated the fibrinolysis in rats. *Ann Nutr Metab*September;48(5):348-56.
- **ODIER,J, 1996** l'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mers 8e Edition DUNOD, pp. 661-847.
- **OMS, 2000** « Directives pour l'eau de boisson : volume 2. Critères d'hygiène et documentation à l'appui ». Organisation mondiale de la santé, 2ème édition. 1050p.
- **OMS/PNUE, 1995.** Recommandations pour la surveillance sanitaire des zones côtières d'usage récréatif et des zones conchylicoles. Programme à long terme de surveillance continue et de recherche en matière de pollution de la mer Méditerranée (MED/POL phase II), 156p.
- **Park C.K., Kim W.J., Kim, K.S., and Park, J.N. 1996.** Extractive nitrogenous constituents in commercial saenjeot, a salted and fermented shrimp (*Acetes japonicus*). *Korean. J. Food Sci. Technol.* 28, 1135-1141.
- **Pérez-Villareal B. &Pozo R., 1990; Medale F.,2005.**Chemical composition and ice spoilage of albacore (*Thunnus alalunga*).*Journal of Food Science*,55(3): 678-682.
- **Piclet G., 1987.**Le poisson aliment. Composition et intérêt nutritionnel. Cahiers de Nutrition et Diététique, XXII. pp. 317-335.

## CONCLUSION ET REFERANCE

---

- **PNUE/PAM/MED POL., 2004.**Lignes directrices pour l'élaboration d'indicateurs d'état écologique et de réduction du stress. Programme des nations unies pour l'environnement / plan d'action pour la méditerranée.MAP Rapports techniques n°154 Athènes : 114p.
- **Prost C., Hallier A., Cardinal M. & Courcoux P., 2002.** Contribution of sensory and olfactometry analysis to discriminate the aroma of different species of seafood products; analysed at three states of freshness.In: Proceedings of the 10th Weurman Flavour Research Symposium, Le Queté J.L. & Etievaut P.X. (Eds.), Lavoisier Publisher, Beaune, France.
- **Ranilson S., Eduardo J., Rodrigo B., Patricia M., Maria E., Luana C., Coelho L, 2005.** Alkaline proteinase from intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Process Biochemistry 40, 1826-1834. Elsevier.
- **Ron van der Oost., Jonny Beyer., Nico P.E. Vermeulen, 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. Environmental Toxicology and Pharmacology 13, 57-149. Elsevier.
- **Schulz, M., A.D. Liese, E.J. Mayer-Davis, R.B. D'Agostino Jr, F. Fang, K.C. Sparks, and T.M. Wolever (2005).** Nutritional correlates of dietary glycaemic index: New aspects from a population perspective. British Journal of Nutrition 94(3): 397-406.
- **Sennai Cheniti, 2003.** Mise en place d'un réseau d'échantillonnage. Les petits pélagiques de l'extrême ouest Algérien. Centre national d'études et de documentation pour la pêche et l'aquaculture (CNDPA).
- **Sidhu, K.S., 2003.** Health benefits and potential risks relate to consumption of fish or fish oil Regul. Toxicol. Pharm., 38: 336-44p.
- **SINOVCIC G., 2000.** The population dynamics of the juvenile anchovy, *Engraulis encrasicolus* (L.), under the Estuarine conditions (Novigrad Sea-Central Eastern Adriatic). Cah. Options Mediterr. 35: PP 273-282.
- **UNEP/FAO/IOC/AIEA, 1993.** guide lines for monitoring chemical contaminants in the Sea using marine organisms. Reference Methods For Marine Pollution Studies No.6, Monaco. 28p
- **Uriarte-Monotoya M.H., Villalba-Villalba A.G., Pacheco-Aguilar \* R., Ramirez-Suarez J.C., Lugo-Sanchez M.E., Gracia-Sanchez G., Carvallo-Ruiz M. G., 2010.** Changes in quality parameters of Montreux sardine (*Sardinops sagax caerulea*) muscle during the canning process. Food Chemistry, 2010, Vol 122(3), p. 482-487.

## CONCLUSION ET REFERANCE

---

- **Wang B., Pace R.D., Dessai A.P., Bovell-Benjamin A. & Phillips B., 2002** Modified extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values in meat with increased specificity and simpicity. *Journal of Food Science*, 67 : 833-2836.
- **WHO., 1993.** Biomarkers and Risk Assessment: Concepts and Principles. Environmental health criteria 155, World Health Orgnization Geneva, ISBN 92 4 157155 1 (NLM Classification: QH 541.15.B615) ISSN 0250-863X.
- **WHO/FAO,1977** .Dietary fats and oils in human nutrition . Report of
- **WOGU,M.D.& MADUAKOR,C.C.(2010).** Evaluation,of Microbial Spoilage Of Some Aquacultured Fresh Fish in Benin City Nigeria. *Ethiopian J. Environ. Stud. Manag.*,3(3),18-22
- **Woyewoder A.D., Shaw S.J., Ke P.J. & Burn B.G., 1986.** Recommended laboratory methods for assessment of fish quality. Canadian technical report of fisheries and aquatic Sciences, N° 1448
- **Yeoh Q.L. & Kasuga F., 2005.** Chapter 3: Fish and fish product. In: *Microorganisms in food 6. Microbiol Ecology of Food commodities.* 2<sup>nd</sup> Ed. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. 763 p.
- **ZAMBOUTCHINI, B., FIORINI, D., VERDENELLI. M.C., ORPIANESI, C. & BALLINI, R. (2008).** Inhibition of microbiological activity during sole (Solea solea L.) chilled storage by applying ellagic and ascorbic acids. *Food Sci. Technol.*,41, 1733-1738.

# **ANNEXES**

## Annexe A

**Tableau XI : Avantages de l'utilisation des poissons** Vindimian E., Garric J., 1993.

| <b>Avantages de l'utilisation des poissons :</b> |  |
|--|--|
| -  | Bon indicateurs d'effets à long terme à cause de leur durée de vie ;   |
| -  | Représentants de différents niveaux trophiques (omnivores, insectivores, herbivores, planctonivores et piscivores) |
| -  | Situés au sommet de la chaîne trophique et consommés par l'Homme ;   |
| -  | Relativement faciles à échantillonner et très faciles à déterminer au niveau de l'espèce ;                         |
| -  | Utilisation pour les usages de l'eau (catégories piscicoles) ;   |
| -  | De nombreux poissons sont considérés comme des espèces menacées.   |

**Tableau XII :**Composition proximale d'une portion de sardine (*Santé Canada, 2005*)

| Poids/volume        | Pour 100 g de sardine |
|---------------------|-----------------------|
| Calories            | 208 kcal              |
| Protéines           | 24,6g                 |
| Glucides            | 0,0G                  |
| Lipides             | 11,5g                 |
| -saturés            | 1,5g                  |
| -monoinsaturés      | 3,9g                  |
| -polyinsaturés      | 5,2G                  |
| -Oméga-3*           | 1,5g                  |
| Cholestérol         | 142mg                 |
| Fibres alimentaires | 0,0g                  |

\* EPA, DHA et acide alpha-linolénique(LNA)

Tableau XIII: Barème de cotation chiffre

| CARACTÈRES OBSERVÉS SUR LE POISSON |                                     | COTATION                                    |                      |   |                        |                                  |                                    |          |
|------------------------------------|-------------------------------------|---|----------------------|---|------------------------|----------------------------------|------------------------------------|----------|
|                                    |                                     | 0   | 1                    | 2   | 3                      | 4                                | 5                                  | 6        |
| PEAU                               | I - MUCUS                           | transparent                                 |                      | laitoux                                       | opaque                 | grumeleux                        | jaune épais                        |          |
|                                    | II - PIGMENTATION                   | irisée                                      | couleurs chatoyantes | couleurs vives                                | couleurs ternies       | terne                            | décolorée                          | grisâtre |
| ŒIL                                | III - TEINTE                        | pupille noire brillante cornée transparente |                      | pupille plus terne à prise cornée opalescente |                        |                                  | pupille blanchâtre cornée laiteuse |          |
|                                    | IV - AFFAISSEMENT                   | bombé                                       |                      | un peu affaissé                               | plat                   | concave au centre                | très concave                       |          |
| BRANCHIES                          | V - TEINTE                          | colorée brillante pas de mucus              |                      | moins colorée, mate                           | se décolorent          | jaunâtre                         | grisâtre mucus laiteux             |          |
|                                    | VI - ODEUR                          | spécifique                                  | neutre               | douceâtre                                     | faiblement rance       | légèrement putride               | putride (sulfurée ou ammoniacale)  | fétide   |
| RIGIDITÉ                           | VII - CHAIR                         | ferme translucide, lisse, brillante         |                      | élastique veloutée, créuse, feutrée           | souple                 | molle                            | flasque opaque                     |          |
|                                    | VIII - PAROI ABDOMINALE             | intacte                                     |                      | détendue                                      | molle                  | fragile                          | perforée                           |          |
| PÉRITOINE                          | IX - ÉTAT                           | adhérant totalement                         |                      | adhérent                                      | peu adhérent           | détérioré                        | lysé                               |          |
| COLONNE VERTÉBRALE                 | X - COULEUR DE LA CHAIR AVOISINANTE | Même teinte que le reste de la chair        |                      |   | rose                   | rouge                            | brune                              |          |
|                                    | XI - ADHÉRENCE À LA CHAIR           | la colonne se brise au lieu de se détacher  |                      | nettement adhérente                           | peu adhérente          |                                  | la colonne se détache facilement   |          |
| EXAMEN APRÈS CUISSON (1)           | XII - ODEUR                         | Algue marine ou spécifique                  | Neutre               | Faible ou désagréable                         | Algre (acide lactique) | soufre (plus ou moins sulfureux) | Ammoniacale                        | Putride  |
|                                    | XIII - SAVEUR                       | Spécifique                                  | Spécifique renforcée | Spécifique atténuée                           | Papier mâché           | Douceâtre un peu amère           | Amères, sulfurées ou ammoniacales  | Nauséuse |

### Sources de variation de la teneur en ABVT

Les sources de variation de la teneur en ABVT sont multiples et agissent à différents niveaux.

Certains facteurs influent sur la quantité de précurseurs des amines volatiles (notamment sur l'OTMA)

initialement présents tandis que d'autres influencent la réaction de formation de ces amines :

- **L'espèce:** les poissons cartilagineux (raie, requin, ...)
- **Le mode de vie :** plus un poisson vit en profondeur, plus son muscle est riche en OTMA.
- **Le lieu de pêche :** en fonction de l'endroit où est pêché le poisson, la flore bactérienne va être différente et donc, le type d'altération également

La préparation / manipulation: afin de limiter la contamination bactérienne, il est important de bien retirer les viscères et la tête du poisson (qui contiennent beaucoup de bactéries). Ainsi, des filets auront généralement une teneur en ABVT plus faible que des poissons entiers.

De même, il faut éviter toute manipulation brutale du poisson car les dommages physiques offrent un accès plus facile aux enzymes et bactéries d'altération

- **Le mode de conditionnement / conservation:** les amines volatiles peuvent être plus ou moins libérées quand le poisson est stocké dans de la glace liquide\*ou de la glace écaillé\*, entraînant une diminution de la teneur en ABVT.

**Tableau XIV :Les normes d'ABVT :**

| ABVT (mg N / 100 g) | Etat de fraîcheur |
|---------------------|-------------------|
| < 20                | Satisfaisant      |
| 20-25               | Acceptable        |
| > 25                | Non satisfaisant  |

Source : ifremer 2006

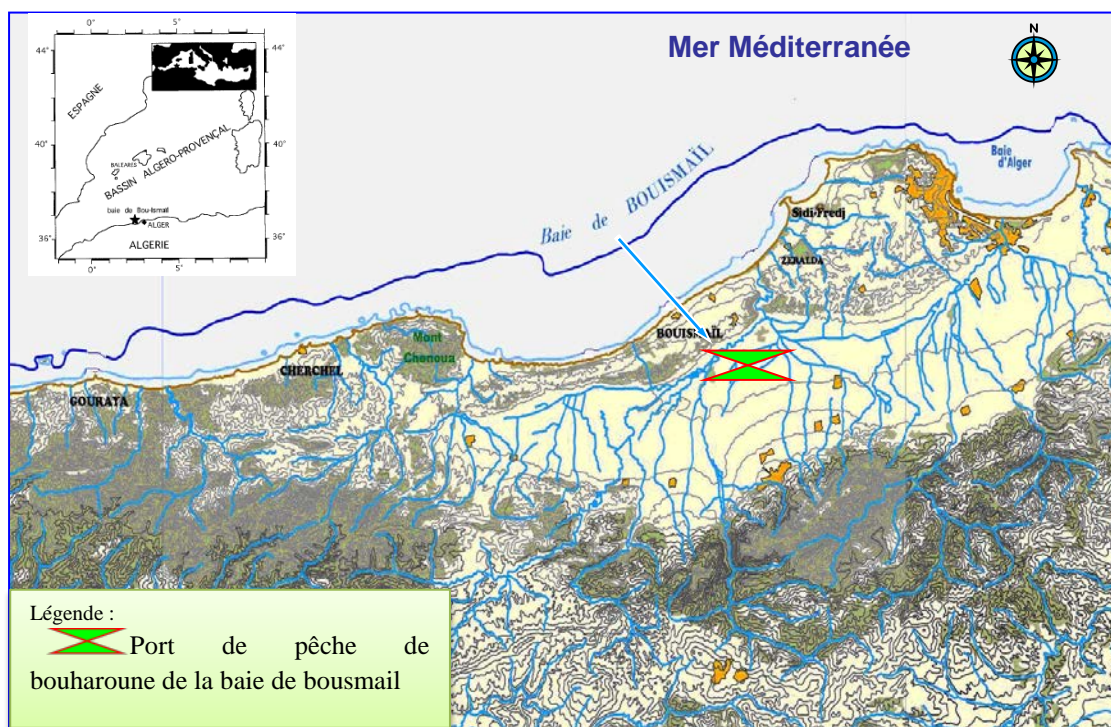


## ANNEXE B : Présentation de la zone d'études

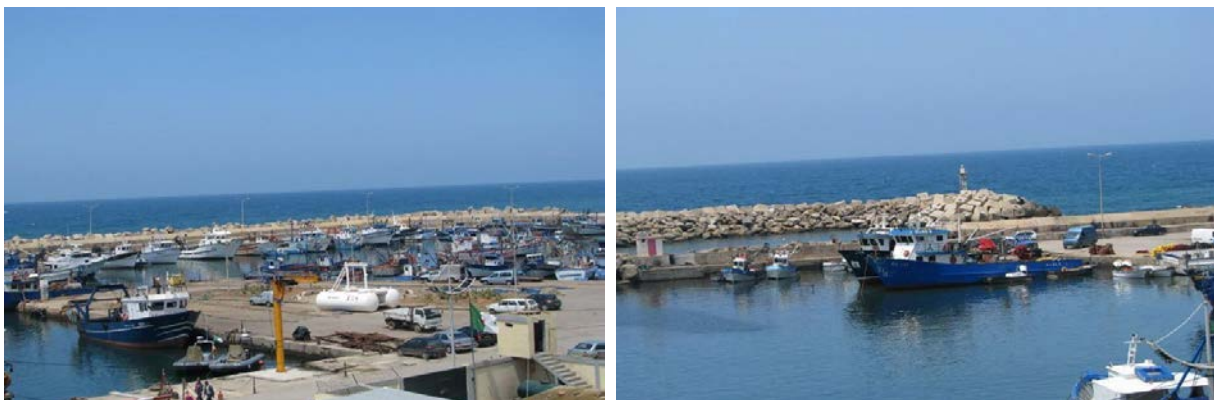
## 1. Présentation du site d'échantillonnage

 Port de Bouharoun

- Position géographique : 36° 36' Nord ; 02° 39' Est ;
- Caractéristiques de port de pêche : linéaire de qui 661 m/L ; Plan d'eau 29830 m<sup>2</sup> ; Terre plein 50715 m<sup>2</sup> ; accès maritime 40 m/l ;
- Existants : 22 chalutiers ; 43 sardiniers ; 60 petits métiers ;
- Production moyenne : poissons blancs 1000 T ; poissons bleus 6000T(CNRDPA).



**Figure 17** : Positionnement des stations artificielles (port de pêche bouharoune).



**Figure 18** : port de bouharoune

## Annexe C : Réactifs et solution chimiques

## ✚ Dosage du Glucose par la méthode DNS



Le DNS ou réactif dinitrosalicylique est préparé de la façon suivante :

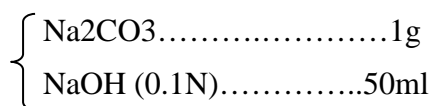
- 2,5 g d'acide 3,5-dinitrosalicylique
- 75 g de sodium potassium tartrate
- 4 g d'hydroxyde de sodium

Ces différents constituants sont dissous suivant l'ordre indiqué dans 250 mL d'eau distillée. Le réactif est conservé à l'obscurité à 4 °C et a une durée de vie de 15 jours.

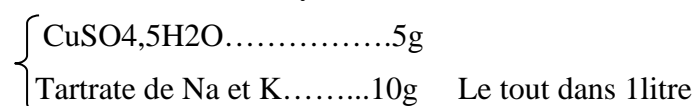
## ✚ Dosages des protéines par la méthode de Lowry



## 1. Réactif de Lowry A

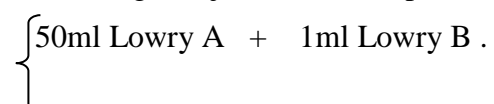


## 2. Réactif de Lowry B



## 1. Réactif de Lowry :

Mélanger le jour de la manipulation



Annexe D : matériels du laboratoire

Le four a moufle



Bain marie 1



Centrifugeuse



Bain marie 2



Distillateur



Bras-mixeur



pH-metre



Hectomètre



Balance de precision 0.00001



Balance de precision 0.01



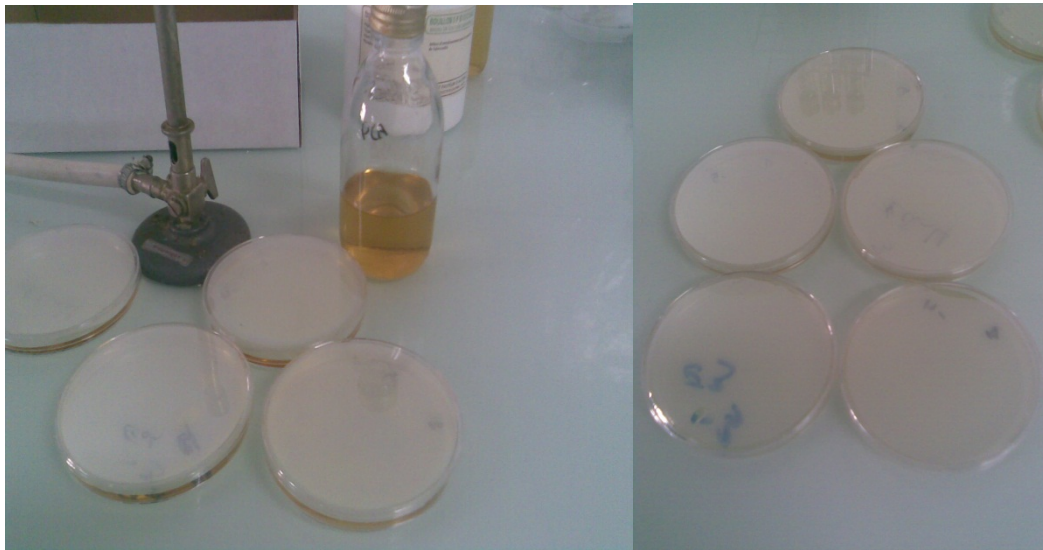
malaxeur



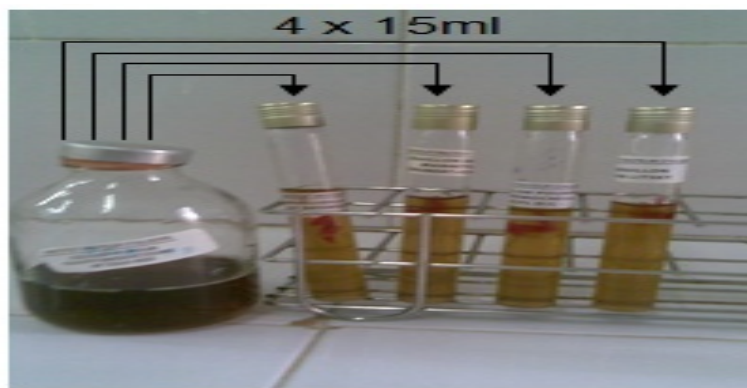
### Matériels du laboratoire

- ✓ Bec bunsen
- ✓ Bicher
- ✓ Boîtes de pétri stériles
- ✓ Ciseaux de laboratoire
- ✓ Creuser
- ✓ Erlenmeyer
- ✓ gants blancs
- ✓ Lame bistouri
- ✓ Pipettes pasteur
- ✓ Portoirs
- ✓ Réfrigérateur
- ✓ Tube à essais à vis

Annexe E : les figures



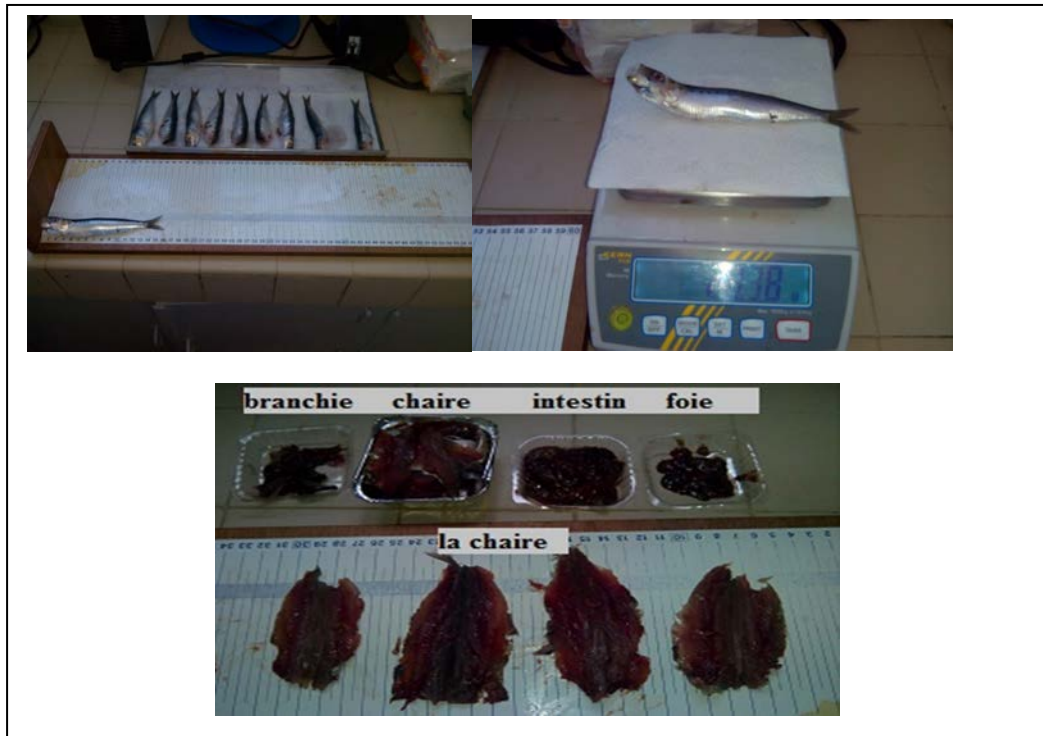
**Figure 7:** Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT).



**Figure 8 :** Préparation des tubes avec de gélose viande - foie



**Figure 9 :** Dénombrement des Coliformes, Test de présomption.



Mesure de la taille; le poids et la dissection de la sardine