



Licence Es-Sciences et Techniques (LST)

TECHNIQUES D'ANALYSE ET CONTROLE DE QUALITE (TACQ)

PROJET DE FIN D'ETUDES

**Contrôle de Qualité des produits de pêches
Dosage des teneurs en histamine, azote basique volatil total
(ABVT) et des taux des bisulfites**

Présenté par :

◆ **MOUFTAKHIR SAFAE**

Encadré par :

- ◆ **Pr. ou Dr. H. KHERRATIA** (Société)
- ◆ **Pr. H.ELGHADRAOUI** (FST – Fès)

Soutenu Le 07 Juin 2016 devant le jury composé de:

- **Pr. EL GHADRAOUI**
- **Pr. AZROUAL**
- **Pr. OULMEKI**
- **Pr. KHERRATIA**

Stage effectué à : l'OFFICE NATIONAL DE SECURITE SANITAIRE

Année Universitaire 2015 / 2016

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



À la mémoire de mon Père.



Dédicace

A mes parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon profond respect et ma grande considération que j'ai pour vous, rien au monde ne pourrait récompenser tous les sacrifices consentis pour mon éducation et mon bien être.

Que ce modeste travail soit le témoignage de ma gratitude, de mon affection et de mon respect.

Au personnel du service bromatologie

Pour leurs amabilités et leurs Collaborations tout au long de la période de mon stage.

Puisse Dieu, le tout Puissant, vous procure santé et longue vie.

A mes professeurs

Pour leurs efforts inestimables et leurs bienveillances tout au long de mon cursus universitaire.



Remerciement

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont aidé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, a la tête de file je tiens à remercier sincèrement Mme KHERRATIA HABIBA mon encadrante de stage qui m'a soutenue et éclairé avec ses conseils et son expérience. Aussi je tiens à remercier Mr LE PROFESSEUR EL GHADRAOUI EL HOUSSINE mon encadrant à LA FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUE pour son aide précieux et ses recommandations.

Je tiens à remercier ma famille pour son support dans les moments les plus difficiles, merci beaucoup, je ne saurais ce que j'aurais devenu sans vous.

Il est lieu aussi d'adresser mes remerciements à tous les responsables de LA FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUE de Fès et surtout à tous les enseignants qui ont participé à ma formation. Qu'ils trouvent ici l'expression de mon profond respect.

Enfin, j'aimerais exprimer mes sincères remerciements à toute personne ayant contribué à l'élaboration et la réussite de ce travail.



Mot introductif

Ce mémoire est le couronnement de notre parcours universitaire au sein de La Faculté des Sciences et Techniques Fès, parcours très difficile certes, mais très enrichissant. Ce parcours nous a préparé, je peux le dire fièrement, pour faire face aux exigences du monde professionnel.

Le monde professionnel n'exige pas seulement la compétence, c'est vrai, qu'elle représente une grande partie, mais le reste est aussi important : comportement, travail de groupe, gestion du stress et du temps, travail de terrain, coopération avec d'autres disciplines, communication efficace. Tous ces éléments peuvent influencer la performance et l'efficacité du travail au même ordre que la compétence.

Notre stage nous a permis d'acquérir de l'expérience sur tous les fronts. Il nous a permis de renforcer nos connaissances et d'en acquérir d'autres. Grâce à l'encadrement fourni, on a pu améliorer notre savoir, notre savoir-faire, mais plus important encore notre savoir être au sein d'une organisation. Avec cela je peux dire que notre formation initiale est belle et bien arrivée à son terme.



Table de matière

INTRODUCTION GENERALE	1
Chapitre 1 : office national de sécurité sanitaire (ONSSA)	3
1. ONSSA	4
2.Quelles sont les missions de l'ONSSA ?	4
3.Quelles sont les approches de contrôle ?.....	4
4.Niveaux d'intervention et outil de décision et de contrôle	5
5.Organigramme et ressources humaines.....	6
6.Présentation de LRARVA.....	7
Chapitre 2 : Approche HACCP	9
1.Définition	10
2.Le domaine d'application de l'HACCP	10
3.Application du système HACCP dans le domaine de pêche.....	13
4.Méthodes usuelles de dosage	14
Chapitre 3 : Qualité des produits halieutiques (Résultat – Discussion – Conclusion)	16
I. Introduction	17
II. Différentes étapes de l'évaluation de la qualité des poissons.....	17
III. Résultat et discussion	28
IV. Conclusion.....	31
Conclusion générale.....	33
Annexes.....	34
Références bibliographiques.....	35



INTRODUCTION GENERALE

Dans plusieurs pays, le secteur de la pêche joue un rôle socio-économique vital et occupe une place très avancée parmi les secteurs de l'économie nationale en particulier dans les pays qui sont à la fois producteurs, consommateurs et exportateurs de produits halieutiques. Sur le plan alimentaire (ingrédients protéiques), les produits de pêche contribuent de manière déterminante à la satisfaction des besoins alimentaires de la majorité de la population mondiale. Le nombre de personnes travaillant directement ou par induction dans ce secteur est en augmentation progressive. Rappelons que la production halieutique mondiale avoisine actuellement les 120 millions de tonnes par an, un nombre prévu auparavant par Ababouche depuis 1995 (Ababouch, 1995).

Au Maroc, avec le tourisme et l'agriculture, la pêche maritime constitue une source économique de grande importance (source de devises), d'autant plus que la demande des produits halieutiques sur le marché international est en constante augmentation. Cependant, cette expansion s'accompagne d'une plus grande exigence des consommateurs sur la qualité des produits. Ceci a poussé une bonne partie des grands pays importateurs de produits de mer de renforcer leur réglementation sur le contrôle des aliments et deviennent de plus en plus exigeants sur les produits de pêche en raison de la pollution des écosystèmes aquatiques engendrée par des eaux usées rejetées sans traitements préalables et des pollutions accidentelles.

Avec plus de 3000 km de côtes (atlantiques et méditerranéennes), le Maroc dispose de ressources halieutiques considérables. Le domaine de la transformation et de valorisation des produits de la mer revêt une importance particulière, en raison du potentiel considérable qu'elle recèle en matière d'investissement, d'emploi, d'exportation et de création de valeur ajoutée, points essentiels sur lesquels s'articule le plan émergence lancé au Maroc en 2005.

Les produits de la mer constituent un secteur important pour le Maroc. Les industries de transformation des produits de la mer représentent un métier au potentiel largement inexploité.



L'amélioration de la qualité des produits halieutiques est devenue donc une préoccupation majeure des pouvoirs publics et de tous les acteurs opérant dans ce domaine.

Le contrôle des taux de substances générées dans les tissus des poissons destinées à la consommation, telles que **l'histamine**, **l'azote basique volatil total « ABVT »** et **récemment les métaux lourds (Hg, Cd, ...)**, est devenu obligatoire. Les teneurs en additifs, généralement ajoutés pour le traitement et la conservation des crustacés (crevettes, langoustines), font également l'objet d'une réglementation stricte et exigeante. Par exemple, le bisulfite de sodium, utilisé comme conservateur contre le noircissement enzymatique de ces espèces, revêt un intérêt majeur dans le domaine de la qualité des produits de la pêche (IFREMER, 1975).

L'objectif principal de ce travail de stage de fin d'études, est de faire des analyses physicochimiques d'intérêt agro-alimentaire ; il s'agit de l'évaluation de trois paramètres les plus déterminants de la qualité des produits halieutiques à savoir : **l'ABVT, l'Histamine et le taux des bisulfites via le dioxyde de Souffre.**

Le premier chapitre de ce travail présente une présentation de l'ONSSA. Le second chapitre donne un bref aperçu sur l'approche systématique HACCP «Hazard Analysis Critical Control Point» souvent adoptée comme programme d'autocontrôle, ainsi que les méthodes d'analyses usuelles de dosage des trois Paramètres essentiels de cette étude. Dans le troisième et dernier chapitre, on va traiter et interpréter d'une manière exhaustive les méthodes d'analyses de l'histamine, de l'ABVT et des sulfites via la détermination du SO₂. Les résultats obtenus seront exposés à la fin de ce chapitre. A la fin du rapport, une conclusion générale et des annexes sont présentées.



Chapitre 1 : Office National de Sécurité Sanitaire (ONSSA)



1. ONSSA :

Office National de Sécurité Sanitaire des Produits Alimentaires (ONSSA) est un établissement public doté de la personnalité morale et de l'autonomie financière créée par la loi n° 25-08 et placé sous la tutelle de l'Etat. Il exerce, pour le compte de l'Etat, les Attributions relatives à la protection de la santé du consommateur et à la préservation de la santé des animaux et des végétaux. Il est appelé à appliquer la politique du gouvernement en matière de sécurité sanitaire des végétaux, des animaux et des produits alimentaires depuis les matières premières jusqu'au consommateur final, y compris les aliments pour animaux.

2. QUELLES SONT LES MISSIONS DE L'ONSSA ?

Afin d'accomplir ses attributions relatives à la protection de la santé du consommateur et à la préservation de la santé des animaux et des végétaux, l'Office National de Sécurité Sanitaire des Produits Alimentaires a été chargé d' :

- Assurer la surveillance et la protection sanitaire du patrimoine végétal et animal au niveau national et aux frontières ;
- Assurer la sécurité sanitaire des produits alimentaires depuis les matières premières jusqu'au consommateur final, y compris les produits de la pêche et les aliments pour animaux ;
 - Homologuer et contrôler les intrants agricoles (semences, pesticides, engrais) et les médicaments vétérinaires ;
 - Appliquer les législations et réglementations relatives à la police sanitaire vétérinaire et phytosanitaire.

3. QUELLES SONT LES APPROCHES DE CONTROLE ?

L'approche adoptée est une approche innovante et moderne en matière de contrôle sanitaire des végétaux, des animaux et des produits alimentaires basée sur :

- ✓ Le contrôle harmonisé des processus de fabrication basé sur le principe de l'analyse de risque ;
- ✓ La responsabilisation des professionnels et l'obligation de l'auto contrôle ;
- ✓ L'octroi de l'agrément sanitaire à tous les établissements agro-alimentaires ;
- ✓ L'obligation de la traçabilité et la responsabilisation des professionnels pour le retrait des produits dangereux ou non conformes



4. Niveaux d'intervention et outils de décision et de contrôle :

4.1- Les niveaux interventions:

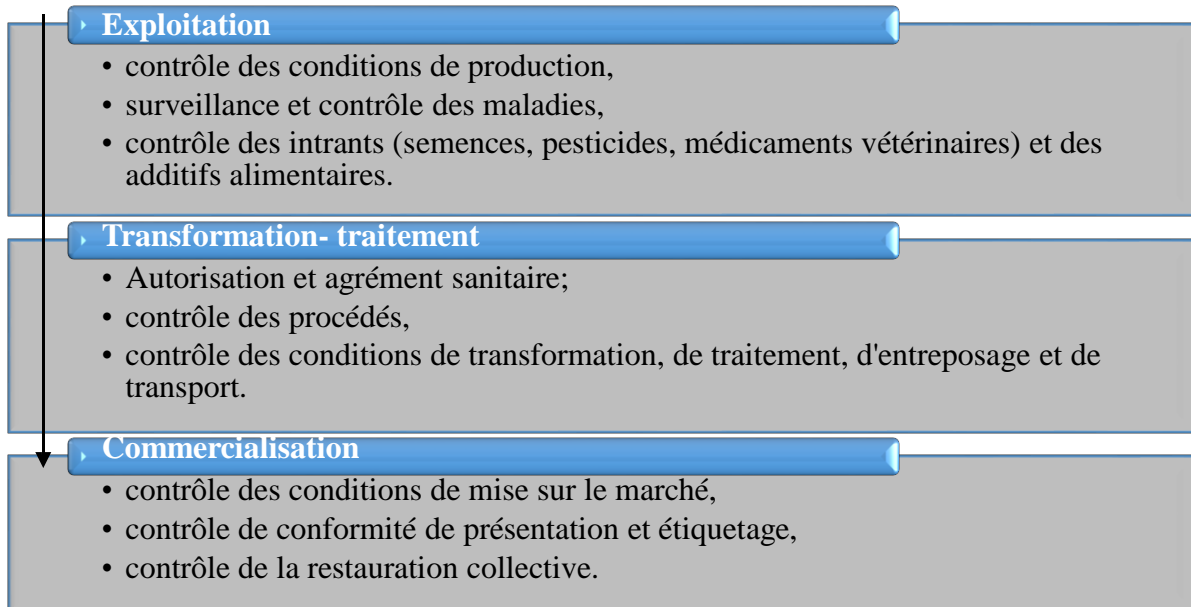


Figure 1: les niveaux d'intervention de l'ONSSA

4.2-Les outils de décision et de contrôle :

Ils sont généralement divisés en trois types :



Figure 2: les outils de décision de l'ONSSA



5. Organigramme et ressources humaines :

5.1 -L'organigramme :

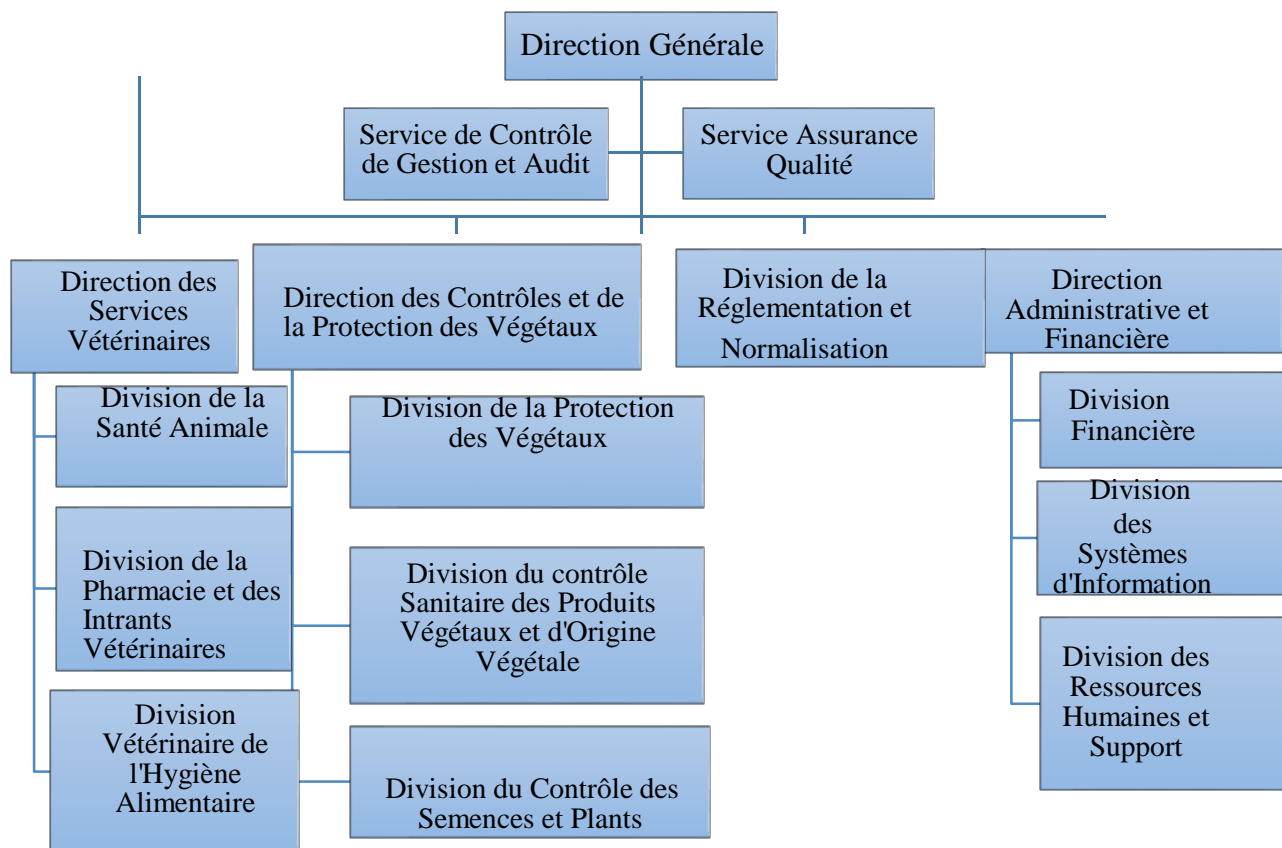


Figure 3: L'organigramme de l'ONSSA

5.2- Les ressources humaines :

Pour assurer les missions qui lui sont dévolues, l'ONSSA dispose dans l'ensemble de ses services aussi bien au niveau central, régional que provincial d'un capital humain réparti comme suit :

Tableau 1: Les personnels de l'ONSSA :

Catégorie	Total
Ingénieurs	289
Médecins vétérinaires	291
Administrateurs et assimilés	83
Agent de maîtrise	926
Agents d'appui	654
Total	2243



6. Présentation du laboratoire régional des analyses et de recherches vétérinaires d'Agadir (LRARVA) :

6.1. La création de LRARVA :

Le LRARVA a été créé en 1980 pour couvrir les besoins de la zone de sud du Maroc en matière d'analyse et contrôle de qualité des produits agro-alimentaires, halieutiques et santé animale. Après une période de formation du personnel et la mise en place des équipements, le laboratoire a démarré ses activités techniques en 1985. En 2010 le LRARVA est converti à l'ONSSA. Il fait partie des laboratoires régionaux qui s'occupent du diagnostic, d'analyses épidémiologiques et de contrôle des denrées alimentaires animales et végétales.

6.2. Attributions et missions :

Les principales missions de LRARVA sont :

- Contrôle et analyse des produits agro- alimentaire
- Le diagnostic des maladies animales
- L'analyse des produits animaux et d'origine animale ainsi que l'alimentation du bétail
- La réalisation d'enquêtes épidémiologiques
- Le contrôle de l'utilisation des produits pharmaceutiques et biologiques vétérinaire

6.3. Organigramme du laboratoire (LRARVA) :

Le laboratoire est organisé en sections : administrative, qualité, appui et logistique et trois sections techniques : section de microbiologie alimentaire, de chimie alimentaire (bromatologie et toxicologie), et en fin une de santé animale.

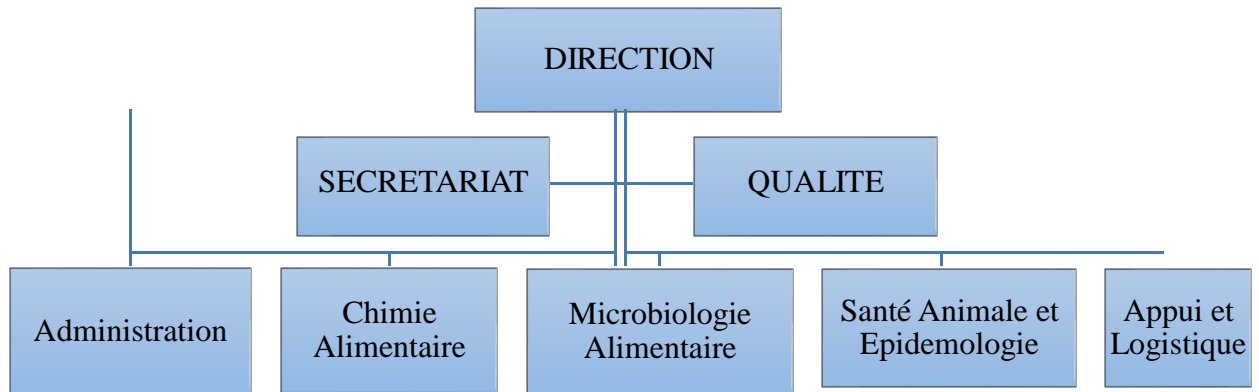


Figure 4: L'organigramme de LRARVA



Chapitre 2 : Approche HACCP



1. Définition :

Le HACCP est l'abréviation courante de <<hazard analysis critical control point >> signifiant <<analyse des dangers et points critiques pour leur maîtrise >> définition donnée par la fédération européenne de restauration collective (FERCO)

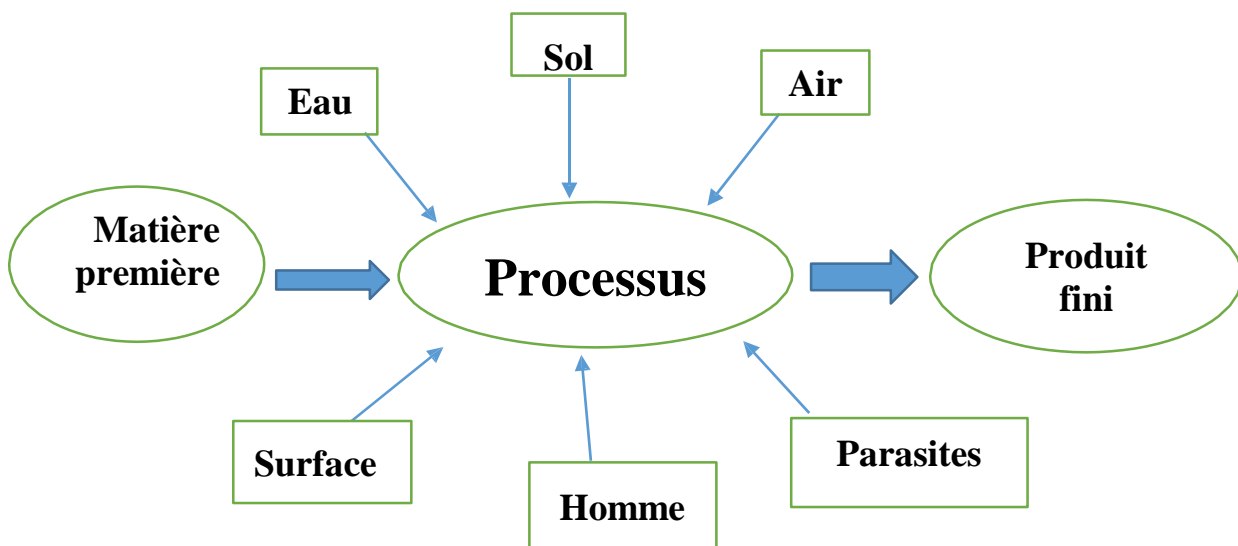
La méthode HACCP est une <<approche systématique d'identification, de localisation, d'évaluation et de maîtrise des risques potentiels en matière de salubrité des denrées dans la chaîne alimentaire >>

Donc HACCP conduit à mettre l'accent sur des mesures préventives plutôt qu'à se fier à l'analyse des résultats pour être appliquée avec succès l'HACCP requiert l'engagement et l'implication de l'ensemble du personnel.

2. Le domaine d'application de l'HACCP :

Le domaine d'application du système HACCP de l'IAA repose principalement sur :

- L'analyse alimentaire de la matière première jusqu'au produit fini en passant bien évidemment par le processus de fabrication.
- Et sur l'hygiène alimentaire de son environnement notamment l'eau, le sol, l'air, le processus etc..., afin d'assurer un produit sain exempt de tout danger, comme le montre le schéma suivant sur :



 Analyse alimentaire

 Hygiène



Selon le codex alimentarius, qui est un document de référence international pour les activités agro-alimentaires, l'application d'une démarche HACCP pour l'assurance de la sécurité ou de la qualité des produits alimentaires fait appel à un plan d'action comprenant les étapes suivantes :

1. La constitution de l'équipe HACCP :

- **Ex:** Responsable d'assurance qualité
- Responsable HACCP
- Responsable de contrôle de qualité et métrologie
- Responsable de contrôle à la réception
- Responsable de gestion de stock et matériel, solvant, service d'achat maintenance.
- Chef d'équipe de production.

2. La définition du champ d'étude :

Lorsque l'équipe est prête à commencer son étude elle faut qu'elle se met d'accord su << termes de références du champ d'étude. Elle doit délimiter son étude sur plusieurs axes :

- **Couple produit/procédé :** l'étude doit elle couvrir tout le processus ou seulement une partie spécifique et concerne-t-elle un produit ou toute la gamme ?
- **Nature des dangers à considérer :** l'étude doit elle couvrir tous les types de dangers (physique, microbiologique ou un seul) ?
- **L'étape :** l'étude HACCP doit elle s'arrêter à la fin de la fabrication ou se poursuivre jusqu'à la distribution, la vente et l'utilisation par le consommateur.

3. La description et l'utilisation attendue de chaque produit

4. Etablissement de diagramme de fabrication :

C'est une description détaillée des étapes de élémentaires du processus de fabrication depuis la réception de la matière première jusqu'à la distribution du produit fini en passant bien évidemment par les phases de stockages, de fabrication, de contrôle, ...



5. Elaboration des 5M de chaque étape de diagramme :

6. Vérification du diagramme de fabrication et des 5 M :

Elle se fait par une personne maîtrisant les différents procédés du processus.

7. L'identification des points critiques pour la maîtrise des dangers(CCP):

- La première étape dans une entreprise donnée consiste à analyser les dangers et de les étudier. Les dangers sont classés en 3 classes principales:
 - **Danger chimique** : il s'agit de la présence dans la denrée alimentaire d'un produit chimique en quantité telle qu'il peut être nocif pour la santé du consommateur.
 - **Dangers physique** : les produits physiques peuvent entraîner des risques pour la santé, ce sont les corps étrangers (bois, verre, métal, cheveux, matière, plastique ...) toxiques.
 - **Dangers microbiologique** : ce sont les contaminants vivants ou issus d'organismes vivants comme : levures, moisissures, bactérie, virus, toxines. Ces contaminants peuvent être introduits dans le produit et se développer ou de survivre malgré une opération destinée à les déduire.
- Tous les dangers doivent être identifiés, enregistrés et évalués en fonction de leur degré de sévérité.
- Après avoir établi la liste de tous les dangers, les mesures préventives doivent être définies pour maîtriser chaque danger, empêcher et éliminer le risque ou le réduire à un niveau acceptable.

8. Elaboration d'un système de surveillance pour chaque CCP :

C'est une étape très importante dans le système HACCP. Ça consiste en : analyse rapide, inspection visuelle, contrôle de document, précision de la fréquence de contrôle, le nom de la personne responsable, et les méthodes d'analyses utilisés



9. Etablissement des actions correctives:

Pour chaque CCP, des mesures correctives et documentées doivent être définies pour leur mise en application lorsque le résultat de la surveillance montre que le point de contrôle critique dépasse les limites critiques.

10. Etablissement d'un système d'enregistrement et de documentation des autocontrôles :

Ça permet d'assurer qu'une tâche sera réalisée toujours de la même façon quel que soit l'opérateur et les conditions et également d'avoir des preuves de toutes les activités.

11. Vérification du système HACCP:

Dans la pratique d'hygiène alimentaire exige un respect de plusieurs règles dont :

- L'absence d'insecte, des déchets etc....
- L'absence de corps étrangers.
- L'absence de substances toxiques.
- L'absence des microorganismes nuisible pour la santé.

3. Application du système HACCP dans le domaine de pêche :

Selon cette démarche HACCP, la réception de la matière première est un point critique majeur de la chaîne de reproduction. Des séries de contrôles seront faites afin de refuser ou accepter cette matière. Parmi ces contrôles effectués sur les produits de pêches, on cite :

1. l'analyse sensorielle.
2. la mesure de pH.
3. l'évaluation de l'azote basique volatile.
4. l'évaluation du taux d'histamine.
5. l'évaluation de taux de SO₂ dans les crevettes.
6. l'analyse bactériologique.



Il est très important de signaler ici que, les contrôles n° 1 et 3 sont des critères déterminants pour l'appréciation du degré de fraîcheur du poisson frais à la réception

Pour les deux contrôle n°2 et 6 on ne va pas les traiter puisqu'ils sont effectués dans le service bactériologie, nous, on s'intéressera seulement aux analyses chimiques,

4. Méthodes usuelles de dosage :

1. Dosage de l'ABVT (Azote Basique Volatil Total):

Le dosage d'ABVT est l'un des critères utilisé pour l'évaluation de l'altération des produits de pêches, il résulte essentiellement de la dégradation des protéines par l'action des bactéries ou des enzymes présente dans les poissons.

Il existe plusieurs méthodes pour déterminer la teneur de l'ABVT.

A. Méthode de micro diffusion décrite par Conway et Byrne (1933)

B. Méthode de distillation décrite par Antonacopoulos (1968).

C. distillation d'un extrait déprotéinisé par l'acide perchlorique (la méthode a un coût élevé).

N.B : dans notre étude on a utilisé la méthode A puisque c'est une méthode fiable, valide et non coûteuse.

2. Dosage d'histamine:

L'histamine est une amine biogène qui est produite après la mort des poissons sous l'action de certaines bactéries, ces dernières produisent une enzyme qui va transformer l'histidine (acide aminé présent dans les tissus de certains poissons à forte teneur) en histamine.

Il existe plusieurs méthodes de dosage :

1. Méthode Biologique
2. Méthode Colorimétrique
3. Méthode Enzymatique
4. La méthode (HPLC)
5. Chromatographie sur couche mince
6. Méthode Fluorimétrique



La 6^{ème} méthode est la méthode qu'on va utiliser pour notre étude puisque c'est une méthode très sensible et fiable, est adoptée presque par toutes les industries de transformation des produits halieutiques, et suit le même mode opératoire.

3. Dosage de bisulfite (additif de conservation des crevettes) :

La conservation des crevettes nécessite l'utilisation des substances chimiques permettant de limiter le noircissement. Le bisulfite est l'un des produits les plus utilisés pour le traitement des crevettes. Un excès de ce produit peut être nuisible pour la santé. Donc il est impératif de recourir à des méthodes de contrôle permettant de vérifier la qualité de ce traitement.

Il existe plusieurs méthodes pour vérifier ce traitement. Pour notre étude on va utiliser la méthode la plus simple et fiable. C'est le dosage de dioxyde de soufre. Cette méthode permet de déterminer le taux de SO₂ total dans les crevettes.

Les trois dosages pour la détermination des trois paramètres, à savoir le taux d'ABVT, d'histamine et la teneur en SO₂, sont essentiels pour l'évaluation de la qualité des produits halieutiques, ainsi qu'une analyse sensorielle.

Dans le prochain chapitre on va étudier la qualité des produits de pêches par développement de tous ces paramètres.



*Chapitre 3 : Qualité des
Produits Halieutiques
(Résultats -Discussion-
Conclusion)*



I. Introduction:

Dans ce chapitre on va étudier tout le processus pour la détermination des différents critères d'appréciation de la qualité des poissons depuis la réception des échantillons à analysés jusqu'aux résultats finaux.

II. Différentes étapes de l'évaluation de la qualité des poissons:

1) Réception des échantillons:

La première étape de ce processus est la réception des différents échantillons. L'étape de l'échantillonnage se fait par un vétérinaire qui prélève neuf échantillons par lot pour que l'échantillon soit représentatif et homogène.

On classe les échantillons (congelé, frais, semi-conserve, conserve) selon la marque et le jour de production de chaque échantillon.



Photos des différents échantillons



2) Analyse sensorielle:

Cette analyse est un indice déterminant de l'état et du degré de fraîcheur des poissons. Il se fait à l'œil nu en se basant sur l'observation de l'état du poisson : peau, œil, branchies, couleur de la colonne vertébrale, écailles...

On classe la qualité du poisson selon les catégories : Excellente, Moyenne ou Mauvaise (Beltran et Moral, 1990) (Voir tableau A annexes) ... Cette méthode est subjective. La personne qui va faire cette analyse doit être qualifiée et expérimentée pour que les résultats soient reproductibles et objectifs.

Poisson		1	3	.	.	N	TOTAL
Aspect	Peau						
	Œil						
	Branchies						
	Chair						
	Couleur						
	Organes						
État	Chair						
	Colonne						
	Péritoine						
Odeur	Branchies, Peau, cavités						
Total							T

Tableau d'évaluation de la fraîcheur des poissons

L'évaluation de la fraîcheur des poissons selon le barème de cotation de l'Union européenne s'effectue en déterminant en premier lieu le nombre de poissons dans l'échantillon, puis en faisant la somme totale des notes partielles obtenues.

L'indice de fraîcheur (IF) est donné par résolution de l'expression.

$$IF = T / (N \times C)$$

T : somme totale des notes partielles

N : nombre de poissons mis en examen.

C : nombre de caractères examinés.

Le lot de poissons est classé en quatre catégories :

- il est retiré de la consommation si l'indice de fraîcheur est inférieur à 1 (catégorie C).
- « Extra frais » si l'indice est supérieur à 2.7.
- « En bon état » s'il se trouve entre 2 et 2.7 (catégorie A).
- Entre 1 et 2, il doit être consommé le plus tôt possible (catégorie B).



Contrainte de cette analyse, la reproductibilité des résultats est toujours mise en cause (facteur humain), et cela nous oriente vers un autre indicateur fiable qui est l'ABVT afin de confirmer l'état de fraîcheur du poisson.

3) Dosage d'ABVT (Azote Basique volatil total):

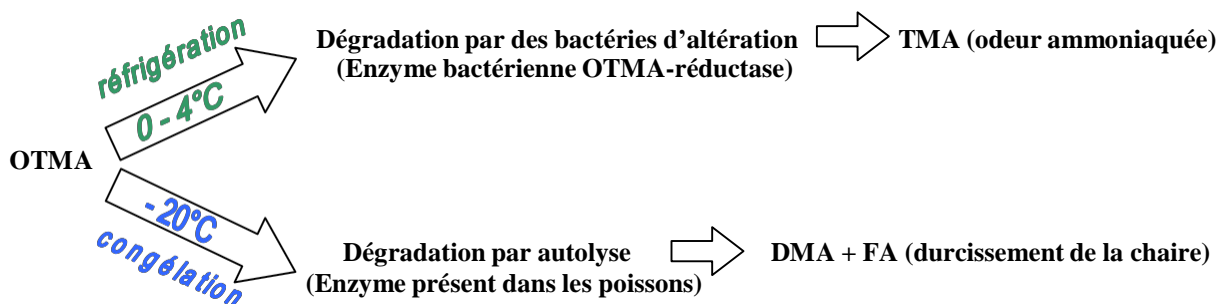
a). Formation de L'ABVT:

Comme on a vu dans le chapitre précédent L'ABVT est l'un des critères utilisé pour l'évaluation de l'altération des produits de mer. Il résulte de la dégradation des protéines par l'action des bactéries ou des enzymes présentes dans les poissons.

L'ABVT est principalement constitué de l'ammoniac (NH_3), de la diméthylamine (DMA), de la triméthylamine (TMA) et d'autres amines (RNH_2) de faible poids moléculaire (donc volatil). Ces composés ont en commun deux caractéristiques : la volatilité et la basicité. Ils sont responsables de l'odeur ammoniaquée qui peut se dégager parfois du poisson. L'ammoniac et les autres amines volatiles sont formés par des protéines qui sont dégradées par des bactéries ou par autolyse.



La diméthylamine (DMA) et la triméthylamine (TMA) sont produites à partir de l'oxyde de triméthylamine (l'OTMA). Les teneurs en OTMA varient d'une espèce à une autre. Cette molécule est très importante dans la vie du poisson, elle joue notamment un rôle dans l'osmorégulation.





b). Dosage d'ABVT par micro -diffusion de Conway et Byrne:

i).Objet et domaine d'application:

Cette méthode décrit une procédure permettant de déterminer la teneur en azote dans les bases azotiques volatiles (ABVT) chez les poissons.

ii). Principe :

Le principe de cette méthode est l'extraction des bases azotées volatiles par une solution d'Acide Trichloracétique, Elles sont ensuite déplacées à l'aide d'une solution de carbonate de potassium. Puis ces dernières sont recueillies dans une solution d'acide borique et titrée par l'acide chlorhydrique.

iii). Réactifs :

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique. L'eau utilisée doit être distillée.

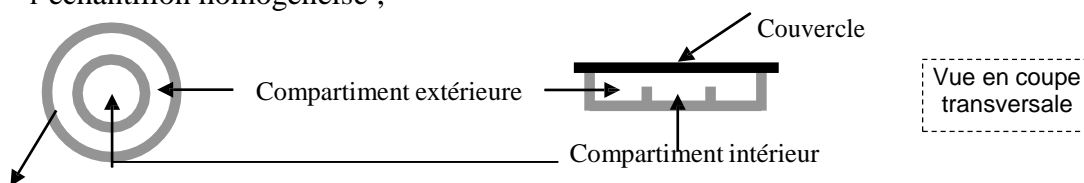
- 1. Solution d'acide Trichloracétique à 10% :** dissoudre 100g d'acide Trichloracétique dans 900ml d'eau.
- 2. Indicateur coloré :** dissoudre 0,01g de bromocrésol et 0,02 mg de rouge de méthyle dans 10ml d'éthanol à 95%.
- 3. Solution d'acide borique à 1% :** à 10g d'acide borique ajouter 200ml d'alcool éthylique à 95% jusqu'à dissolution complète, puis 10ml d'indicateur et compléter à 1 litre avec de l'eau distillée.
- 4. Solution saturée de carbonate de potassium K_2CO_3 :** mélanger 120g de K_2CO_3 et 100ml d'eau. Faire bouillir doucement pendant 10mn et filtrer sur papier filtre.
- 5. Solution d'acide chlorhydrique 0,01N.**
- 6. Agent de scellage.**

iiii). Mode opératoire :

- 1.** Hacher soigneusement l'échantillon à analyser. Peser ($5.0 \pm 0,1$) g de l'échantillon haché, ajouter 45ml d'acide trichloracétique à 10%, homogénéiser pendant 2 minutes dans un mélangeur rapide. Filtrer le mélange.
- 2.** Introduire dans le compartiment interne de la cellule 1 ml de la solution d'acide borique.
- 3.** Introduire dans le compartiment externe de la cellule 1ml du filtrat obtenu et 1,5 ml d'eau distillée.



4. Placer le couvercle enduit d'agent de scellage en laissant un espace.
5. Faire pencher légèrement la cellule et ajouter 1ml de la solution de carbonate de potassium dans le compartiment externe et fermer rapidement le couvercle de façon étanche.
6. Par un mouvement de rotation, mélanger le contenu du compartiment externe en prenant soin de ne pas mélanger le contenu des deux compartiments.
7. Faire incuber pendant 2 heures à 37°C.
8. Titrer le contenu du compartiment interne par la solution d'acide chlorhydrique 0.01 N Jusqu'au virage de l'indicateur au rose.
9. Réaliser un essai à blanc en utilisation 1ml d'acide trichloracétique à 10% au lieu de l'échantillon homogénéisé ;



Cellule de micro- diffusion de Cnoway

iiii). **EXPRESSION DES RESULTATS :**

La teneur en ABVT est exprimée en mg d'azote pour 100g de l'échantillon.

$$\text{ABVT en mg N/100g} = (V_1 - V_0) \times 41,8$$

V_1 = Volume en ml d'acide chlorhydrique 0,01N versé.

V_0 = Volume d'HCL 0,01N nécessaire pour neutraliser le blanc.

c). **Normes:**

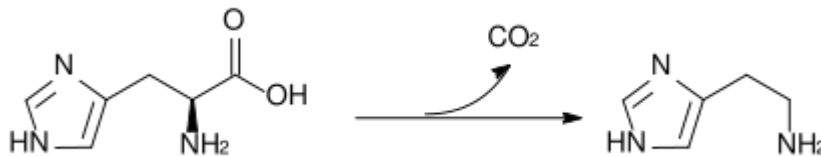
Catégories de produit de mer	Limites			
	bonne qualité	qualité commerciale courante	qualité médiocre	taux limite
conserves ou semi-conserves de poisson (sardines, sardinelles, maquereaux).	< 50	50 à 60	60 à 70	> 70
crustacés frais ou en conserves.	< 30	30 à 40	40 à 60	> 80



4) Dosage de taux d'histamine:

a) Formation d'histamine :

Comme on a vu dans le chapitre précédent, l'histamine est une amine biogène produite après la mort du poisson sous l'action de certaines bactéries. Ces dernières produisent une enzyme (histidine décarboxylase) qui va transformer l'**histidine** (acide aminé présent à forte teneur dans les poissons) en histamine.



b) Méthode de dosage de l'histamine (le r k et bell) :

b-1) OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION :

Cette méthode s'applique à l'ensemble des produits de la pêche.

b-2) PRINCIPE :

Extraction de l'Histamine par une solution d'acide trichloracétique et séparation par chromatographie sur colonne échangeuse d'ions et élution par l'acide chlorhydrique. Dosage par fluorimétrie après complexation par l'Ortho-Phtalaldéhyde (OPA).

b-3) REACTIFS :

Tous les réactifs doivent être de qualité. L'eau utilisée doit être distillée

1. Solution d'acide trichloracétique à 10%
2. Résine amberlite CG 50 type 1 : 75 à 150 microns (100 à 200 mesh) ;
3. Tampon acétate (0.2 M, pH : 4.62) : dissoudre 27.20g d'acétate de sodium cristallisé (CH₃COONa,3H₂O) dans quelques ml d'eau et ajouter 11.4ml d'acide acétique et compléter à 2 litres avec de l'eau. Le pH est ramené à 4.62 avec quelques gouttes de CH₃COOH ou (CH₃COONa,3H₂O).
4. Acide chlorhydrique solution à 0.2N
5. Acide chlorhydrique solution à 0.7N
6. Hydroxyde de sodium solution 1N
7. O-Phtalaldéhyde (OPA) en solution à 1% dans l'alcool méthylique.
8. Solution standard d'histamine à 1g/l : dissoudre 0.1656 de chlorhydrate d'histamine dans 100ml d'acide chlorhydrique 0.1N



b-4) APPAREILLAGE :

1. Colonne en verre de 150x9mm munie d'un robinet et d'un réservoir de 100 à 250ml
2. Spectrofluorimètre
3. pH-mètre au centième
4. Hachoir à viande pour hacher les échantillons de poisson
5. Mixeur à grande vitesse.
6. Système courant de filtration rapide avec papier filtre de diamètre de 150mm

b-5) MODE OPERATOIRE :

b.5.1. Préparation de l'échantillon :

Hacher un échantillon représentatif de poisson, en prélever (10.0 ± 0.1) g et les ajouter à 90ml d'acide trichloracétique à 10%. Le mélange est homogénéisé dans un mixeur puis filtré.

b.5.2. Préparation de la résine échangeuse d'ions :

Mettre en suspension 1g de résine amberlite dans une quantité suffisante de tampon acétate, transférer dans la colonne. La hauteur de résine doit être de 50mm.

b.5.3. Séparation de l'histamine :

Dans un bêcher placer 20ml de tampon et ajouter 0.2ml d'extrait trichloracétique, transférer sur la colonne puis rincer le bêcher avec 30ml de tampon. Laisser couler le liquide, laver la colonne avec 100ml de tampon. Eliminer les solutions de lavage. Eluer l'histamine avec 20 ml d'acide chlorhydrique 0.2N et recueillir l'éluat dans une fiole jaugée de 20ml

b.5.4. Détermination de l'histamine :

Transférer 2ml de l'éluat dans un tube et ajouter dans l'ordre en agitant après chaque addition 1ml de solution hydroxyde 1N et 0.1ml d'OPA à 1%. Après exactement 3mn et demi, ajouter 2ml d'HCl 0.7N. Effectuer un essai à blanc dans les mêmes conditions en remplaçant les 2 ml de l'éluat par 2ml d'eau.

Mesurer la fluorescence aux longueurs d'onde d'émission et d'excitation respectives de 450 et 360nm.

b.5.5. Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en mg d'histamine par 100g de l'échantillon ou en ppm.

$$\text{Soit : Histamine en mg/100g} = T/Z \times 18$$

Où T = fluorescence l'échantillon moins celle du blanc
Z = fluorescence du standard moins celle du blanc.



Photos du spectrofluorimètre et des colonnes d'extraction

b-6) NORMES :

- Pour les poissons frais : la valeur maximale est 50 ppm
- Pour les conserves :
 - 1ère condition : la moyenne doit être inférieure à 100ppm
 - 2ème condition : pas plus de deux valeurs supérieures à 100ppm sans atteindre 200ppm
 - 3ème condition : aucun échantillon ne doit dépasser 200ppm
- Pour les semi-conserves :
 - 1ère condition : la moyenne doit être inférieure à 200ppm
 - 2ème condition : pas plus de deux valeurs supérieures à 200ppm sans atteindre 400ppm
 - 3ème condition : aucun échantillon ne doit dépasser 400ppm.

Si l'une des trois conditions n'est pas remplie → le produit est non conforme



b-7) CINÉTIQUE DE FORMATION DE L'HISTAMINE:

b.7.1. Effet de la Température

Pour étudier l'impact de la température sur l'évolution du taux d'histamine chez les thonidés, on a fait le prélèvement de deux lots A et B. On a placé le lot A à une température de 4 °C, et le lot B à la température ambiante du laboratoire. La mesure du taux d'histamine se fait à des temps divers.

b.7.2. Effet du Salage

Pour déterminer la concentration minimale du sel inhibant la production d'histamine, on a procédé à un prélèvement de quatre lot de poisson (thon), on leur a additionné du sel a différentes concentrations : 2, 4, 6, 8 et 10%, après une journée d'incubation. On a fait le dosage de l'histamine dans ces échantillons placés à différentes concentrations de sel.

b.7.3. Effet de la Congélation - Décongélation

Le poisson frais à la réception ne subit pas une transformation rapide. Il est obligatoire de le conserver dans un congélateur avant de l'analyser ultérieurement. Pour étudier l'effet des cycles répétitifs de congélations-décongélation sur la formation de l'histamine dans des échantillons de temps, on a dosé le taux de l'histamine dans un lot de six échantillons de thon congelés et décongelés trois fois à l'air ambiant.

5). Dosage de bisulfite dans les crevettes :

Comme on a vu dans le chapitre précédent, la conservation des crevettes nécessite l'utilisation des substances chimiques permettant de limiter le noircissement. Le bisulfite est l'un des produits les plus utilisés pour le traitement des crevettes. Un excès de ce produit peut être nuisible pour la santé. Donc il est impératif de recourir à des méthodes de contrôle permettant de vérifier la qualité de ce traitement.

Il existe plusieurs méthodes pour vérifier ce traitement, pour notre étude on va utiliser celle la plus simple et fiable, c'est le dosage de dioxyde de soufre. Cette méthode détermine les SO₂ total dans les crevettes.

a) Objet et domaine d'application:

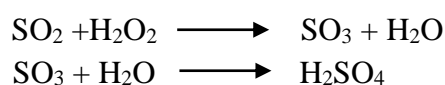
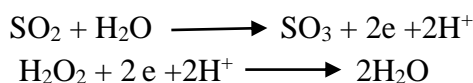
Cette méthode permet le dosage du SO₂ total dans les morues, les langoustines, les crevettes



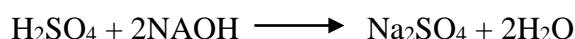
b) Principe

Le dioxyde de soufre fixé par la chair broyée est déplacé en présence d'HCl pur dans un courant de CO₂. Il est recueilli dans l'eau oxygénée H₂O₂ qui l'oxyde à l'état d'acide sulfurique. Le H₂SO₄ formé est dosé par la soude NaOH.

c) Mécanisme réactionnel



Réaction de dosage :



d) Mode opératoire

Dans le ballon A, introduire :

- 100 g de chair broyée de crevettes.
- 100 ml d'eau distillée.

Mettre dans le ballon D : 20 ml de H₂O₂ et

Brancher le réfrigérant et faire passer pendant quelques instants un courant de CO₂.

Introduire 10 ml d'HCl dans l'ampoule C, et ouvrir le robinet pour faire couler l'acide dans le ballon A, rincer l'ampoule C avec de l'eau distillée. Rebrancher le courant de CO₂.

Maintenir une douce ébullition dans le ballon A pendant 1h30.

Titrer à la soude le contenu du ballon D en utilisant le bleu de Bromophénol comme indicateur coloré.

e) Expression des résultats :

1 mole de SO₂ correspond à 2 moles de NaOH

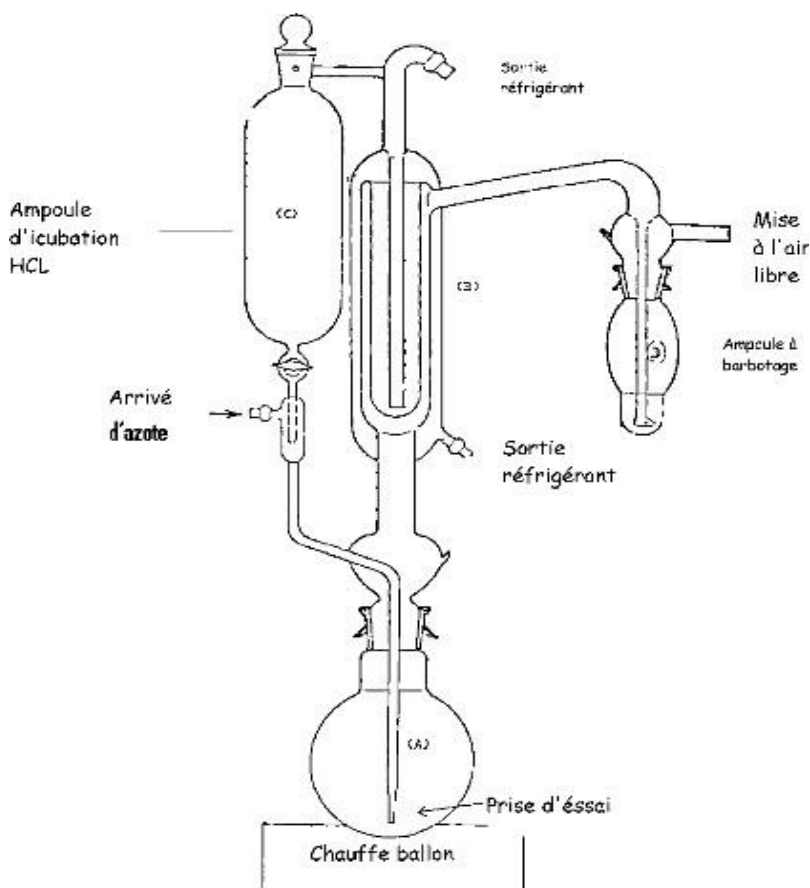
Donc 1 ml de NaOH 0,01 N correspondant à 0,32 mg de SO₂.

La teneur en SO₂ exprimée en mg pour 100 g d'échantillon est égale à :

$$T = (0.32 \times V/M) \times 100$$

M = masse en gramme de la prise d'essai

V = volume en ml de NaOH utilisé.



Montage du système de dosage de SO₂

(A) ballon rodé, (B) réfrigérant, (C) ampoule d'incubation d'HCl, (D) ampoule à barbotage.

f) Normes :

Tableau 1 : Seuils de tolérance

<i>Produit de la mer</i>	<i>Seuils de tolérance en mg/kg</i>
Crustacés frais, congelés et surgelés	150
Moins de 80 unités	150
Entre 80 et 120 unités	200
Plus de 120 unités	300
Cuite	50



III. Résultats et discussion :

Analyse 1 : taux d'histamine et d'ABVT

Le tableau 1 regroupe les résultats d'analyse d'ABVT et d'histamine effectuée sur différents échantillons de conserves :

N°d'échantillon	Taux d'histamine	Taux d'ABVT
1	15.30	14.25
2	17.25	16.23
3	22.11	28.65
4	20.14	17.23
5	14.65	23.59

Tableau1 : résultats d'analyse d'Histamine et d'ABVT

Au vu des résultats concernant l'analyse 1, on peut remarquer que les valeurs des taux de l'ABVT et de l'histamine pour l'ensemble des échantillons sont conformes par rapport aux normes fixées par les organismes internationaux. Par conséquent, ces produits de pêche sont déclarés de bonne qualité.

Analyse 2 : Cinétique de formation de l'histamine:

1) Effet de la Température :

L'étude de l'effet de la température a été réalisée par le dosage de l'histamine dans des échantillons de poisson conservés à deux températures différentes : 4°C et 25°C à divers temps. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous (tableau 2)

Tps (h)	0	3	6	9	18	24	36	46	72	96	120	140	160
T.H à 4°C	36,38	37	37,16	37,79	37,88	37,7	37,74	37,74	37,77	37,74	40,89	81,36	190,19
T.H à 25°C	33,48	45,89	67,04	123,91	737,5	1960,3	2721 ,93						

Tableau 2 : Variation du taux d'histamine en fonction de la température

(T.H = taux d'histamine en ppm.)



Les résultats du tableau montrent que la production d’histamine dans les échantillons de poisson conservés à une température de 4°C est relativement stable durant les 5 premiers jours d’incubation. Au-delà de cette période, le taux de production d’histamine augmente jusqu’à dépasser les normes de la consommation.

Par contre, pour les échantillons conservés à la température de 25°C, le taux de production d’histamine est rapide et important, atteignant des valeurs toxiques seulement 12 heures après leur réception.

Puisque la production d’histamine est due à des enzymes bactériennes (contamination microbienne) donc on peut conclure que les bactéries responsables de cette contamination se développent plus quand la température augmente.

➡ Donc la conservation des produits de pêches doit se faire à des températures basses au moins 4C°

2) effet de salage :

Les résultats de l’étude du salage faite par l’incubation des échantillons de thon à des concentrations de sel allant de 2 jusqu’à 10% pendant 24 heures a permis l’obtention des résultats suivants :

% en sel	À la réception	2	4	6	8	10
T.H	30,03	1811,08	582,06	314,67	30,78	31,15

Tableau 3 : Variation de taux d’histamine en fonction du pourcentage en sel

D’après les résultats du tableau, le taux de formation de l’histamine est inversement proportionnel à la concentration en sel ajouté. En effet, plus la concentration en sel augmente, plus la production de l’histamine dans le milieu diminue, et l’effet inhibiteur ne devient maximal et total qu’à partir de 8%. Par contre, à une concentration de sel de 2%, la production de l’histamine est excessive et toxique.

Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que les bactéries productrices de l’histamine sont très sensibles au sel. D’autre part, la concentration de 2% de sel ne semble pas suffisante pour inhiber la croissance des bactéries histidinolytiques à température ambiante



➡ D'après notre étude, la concentration minimale en sel propice pour conserver le thon frais à la température ambiante sans formation d'histamine pendant 24 heures, est de 8%.

3) Effet congélation-décongélation :

Les trois cycles de congélation-décongélation que l'on a fait subir aux échantillons de thon, ont produit les taux d'histamine indiqués sur le tableau :

N° d'échantillon	T.H, Jours1	T.H, Jours2	T.H, Jours3
. 1	30,4	42,7	46,0
2	28,9	44,9	49,8
3	33,1	42,6	46,9
. 4	25,5	33,6	44,7
. 5	30,6	42,3	51,8
. 6	33,5	38,9	67,9
Moyenne	30,33	40,83	51,18

Tableau 4 : Taux d'histamine durant les trois cycles de congélation-décongélation

Le tableau 4 montre que le taux de l'histamine a augmenté d'environ durant les trois cycles de congélation-décongélation, mais sans dépasser les normes de consommation.

Cette augmentation est due à la formation de l'histamine dans le muscle du poisson lors de la décongélation (Taylor, 1982), où il y a réactivation de la croissance et du métabolisme bactérien et, par conséquent, réactivation de l'enzyme de conversion de l'histidine en histamine (Jensen et Shutz, 1990).

➡ **Donc, afin de minimiser le risque d'une intoxication probable par l'histamine, il faut procéder à l'utilisation immédiate des poissons après la première décongélation.**

Analyse 3 : taux de SO2 dans les crevettes :

Les valeurs obtenues pour le taux de bisulfites dans les crevettes prélevées en trois lieux différents sont présentés dans le tableau suivant.



Lieu de prélèvement	Masse des crevettes en(g)	Teneur en SO ₂ , (ppm)
Centre Commercial Marjane	60,47	343,97
	60,45	333,50
Marche Bensergao	60,75	684,77
	62,00	722,58
Marché central Al Massira	60,00	1146,66
	60,87	1146,04

Tableau 5 : Résultats des analyses effectuées sur les crevettes dans trois sites commerciaux

Au regard des résultats issus des analyses 3, on remarque que pour tous les échantillons analysés, le taux des bisulfites dépasse largement la limite permise,

➡ **Produits non conformes, les quantités d'additifs ne sont pas respectées**

IV. Conclusion :

Les analyses des trois paramètres précédents sont effectuées dans le but de l'évaluation de la qualité des produits de pêche. D'après les résultats obtenus on peut conclure :

- Pour les conserves le taux d'ABVT et d'Histamine respecte les normes.
- La production de l'histamine est influencée par certaines conditions de conservation, à savoir : la température du milieu, la salinité, et les cycles répétitifs des congélations-décongélations qui peuvent engendrer la formation de cette substance thermostable à des taux toxiques.
- Concernant l'analyse de bisulfites, on a constaté que les quantités des additifs ne sont pas respectées, non-conformes. Ceci pourrait être expliqué par la façon dont les processus de traitement ont été réalisés.



Donc il est nécessaire de :

- ✓ Mettre en place un système de froid pour la manutention du poisson depuis la capture jusqu'à sa transformation est obligatoire, dans les conserveries marocaines.
- ✓ Un salage du poisson par des concentrations de sel supérieures à 8% est souhaitable si on a un problème de réfrigération
- ✓ Ne pas rompre la "chaîne du froid" à aucun moment aussi bien lors de la capture que lors de la transformation, du conditionnement puis de la commercialisation.
- ✓ Respecter de bonnes conditions d'hygiène pour éviter toute croissance des germes naturellement présents dans le poisson et toute contamination extérieure.
- ✓ décongeler le poisson rapidement et l'utiliser aussitôt, en cas de congélation

Pour les processus de traitement, nous recommandons :

- ✓ Une formation professionnelle des pêcheurs en matière d'utilisation des additifs
- ✓ Une sensibilisation ciblée sur les impacts que peuvent engendrer les bisulfites sur le plan sanitaire.
- ✓ Multiplier les systèmes de contrôle et les fréquences de contrôles des quantités des additifs, unifier l'application des dispositions réglementaires et imposer la possession d'une traçabilité concernant la quantité de ces additifs utilisés par rapport au tonnage de la production.



Conclusion générale

Durant la période de mon stage effectué au sein du service Bromatologie, j'ai assisté et participé à plusieurs travaux qui m'ont permis d'enrichir mes connaissances théoriques, pratiques et techniques. L'objectif principal de ce travail est de faire des analyses physicochimiques dans le domaine de l'agro-alimentaire. Il s'agit de l'évaluation de trois paramètres les plus déterminants de la qualité des produits halieutiques à savoir : l'ABVT, l'Histamine et le taux de bisulfites.

Dans un premier temps, nous avons effectué des analyses de l'ABVT et d'Histamine pour 5 échantillons de conserves. Pour l'histamine, les analyses d'échantillons ont permis de détecter des teneurs en histamine comprises entre 14 - 23 ppm. Ces valeurs sont largement en dessous du seuil de tolérance en histamine dans les produits halieutiques. Pour l'ABVT, toutes les valeurs obtenues ne dépassent pas les seuils autorisés.

Cependant la production de l'histamine est influencée par certaines conditions de conservation, à savoir : la température du milieu, la salinité, et les cycles répétitifs des congélations-décongélations qui peuvent engendrer la formation de cette substance thermostable à des taux toxiques.

Dans les conserveries marocaines, la mise en place d'un système de froid pour la manutention du poisson depuis la capture jusqu'à sa transformation est obligatoire. Et le respect de conditions d'hygiène de la capture jusqu'à l'expédition constitue le meilleur moyen d'éviter la production excessive de l'histamine. Un salage du poisson par des concentrations de sel supérieures à 8% est souhaitable si on a un problème de réfrigération.

Dans un deuxième temps, nous avons effectué des analyses pour déterminer le taux de bisulfites dans les crevettes prélevées en trois lieux différents. D'après les résultats on a remarqué que les crevettes prélevées des trois lieux sont non-conformes, ceci pourrait être expliqué par la façon dont les processus de traitement ont été réalisés.



ANNEXES

Tableau A: Critères d'évaluation de la fraîcheur des poissons (thons et sardines).

<i>PARTIES DU POISSON EXAMINÉES</i>	<i>CRITÈRES</i>			
CATÉGORIES	Extra	bonne	moyenne	Non admis
<i>APPARENCE</i>				
Peau	Pigmentation brillante, pas de décoloration, mucus transparent et aqueux	pigmentation brillante mais, non luisante, mucus légèrement trouble	Pigmentation en voix de décoloration et terne, mucus laiteux	Pigmentation terne, mucus opaque
Œil	Convexe, cornée transparente, pupille noire et brillante	Convexe et légèrement enfoncée, cornée légèrement opalescente, pupille noire et terne	Plat, cornée opalescente, pupille opaque	Concave au centre, cornée laiteuse, pupille grise
Branchies	Couleur brillante, pas de mucus	Moins coloré, quelques traces de mucus clair	Légèrement opaques	Jaunâtres, mucus laiteux
Chair (abdomen)	Bleuâtre, translucide, pas de changement de couleur	Veloutée; cireuse. terne, couleur légèrement altérée	Légèrement opaque	.Opaque
Couleur de la colonne vertébrale	incolore	Légèrement rosée	Rose	Rouge
Organes	Les reins et résidus sont rouges	Les reins et résidus sont rouges ternes et le sang se décolore légèrement	Les reins, résidus et sang sont roses	Les reins, résidus et sang sont brunâtres
<i>ÉTAT PHYSIQUE</i>				
Chair	Ferme, élastique à surface lisse	Mois élastique	Légèrement molle à surface cireuse	Molles à surface granuleuse et les écailles se détachent facilement
Colonne vertébrale	Se casse au lieu de se détacher	Adhère	Adhère légèrement	N'adhère pas
Péritoine	Adhère à la chair	Adhère plus ou moins	Adhère légèrement	N'adhère pas
<i>ODEUR</i>				
Branchies, peau, cavité abdominale	Odeur d'algues marines	Pas de mauvaise odeur ni d'odeur d'algues	Légèrement putride	Putride



Références Bibliographiques

Ababouch L.H. *Assurance de la qualité en industrie halieutique. Manuel Scientifique et Technique*. Actes Edition, Inst. Agro. Vet. Hassan II, Rabat, Maroc, (1995).

Adamou. R., Coly. A., Douabalé S.E., Saleck L.C., Gaye S.D., Tine. A., *Jour. Fluoresc.* (2005) 15(5), 679-6.

Antonacopoulos N., Vyncke W. *Determination of volatile basic nitrogen in fish : a third collaborative study by West European Fish Technologists Association (WEFTA)*. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A* (1989), 189, 309-316.

Codex Alimentarius. Section 7.5, HACCP Guidelines (1993), Vol. 1, sup.1 : 95-103.

Food and Drug Administration (FDA). *Decomposition-related Hazards, Chap.8 (In Fish and Fisher Products. Hazards and controls Guidance)*, FDA 3rd edition (2001), Washington D.C.

Frank H.A., Yoshinaga D.H., *Histamine production in Tuna. Seafood toxins.ACS symposium series N°262*. American Chem. SOC., Pp. 443-451. E.P. Ragelis edition (1984), Washington, D.C.

Frank H.A., D.H. Yoshinaga, and W.K. Nip, *Histamine formation and honeycombing during décomposition of skipjack tuna, Katsuwonus pelamis, at elevated température*; *Marine Fisheries Review*; Vol.43 N° 10 (1981) 9-14.

IFREMER a, Chantreau P, Vallet J. L., *traitement des langoustines et des crevettes contre le noircissement*. RIDRV-91.06-VP Nantes, (1991).

IFREMER b, *département technique CSRU, identification et dosage des conservateurs et autres additifs dans les produits de la pêche*. Norme AFNOR V03-060-Mai. (1975).

