

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun, Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Nutrition et Technologie Agro-alimentaire



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du

Diplôme de Master Académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences alimentaires

Spécialité : Agroalimentaire Et Contrôle De Qualité

Présenté par :

- BEDRI Bouchra
- BENCHAA Kheira
- RAHLI Imen

Thème

**Etude Des Paramètres Physicochimiques Et
Microbiologiques Des Calamars Surgelés Importés**

Soutenu publiquement le 05/06/2022, devant le jury composé de :

Président	: Pr. Acem Kamel	Prof
Examineur	: Dr. Mezouer Djamila	M.C.A
Encadreur	: PhD. Ali-Nehari Abdelkader	M.C.A

Année Universitaire 2021-2022

Remerciements

C'est un plaisir de remercier au début d'un tel travail Dieu et après lui tous ceux qui ont contribué à le rendre possible et agréable. Même si dans notre cas, cette liste peut sembler longue, c'est avec mon enthousiasme le plus vif et le plus sincère et au-delà de tout formalisme que nous voudrions rendre mérite à tous ceux qui à leur manière nous ont aidé à mener à bien ce travail.

Nous tenons à adresser nos remerciements en tout premier lieu à Monsieur ALINEHARI ABDLKADER pour avoir accepté de nous encadrer et qui nous a consacré un temps précieux malgré la charge de ses responsabilités et ses occupations scientifiques. Un grand merci pour ces conseils fréquents et avisés, ses encouragements, son soutien, sa disponibilité. Merci pour tout, avec notre plus profond respect. Que ce travail soit le témoignage de notre reconnaissance.

Nous remercions sincèrement monsieur le professeur ACEM KAMAL, pour avoir, d'une part, bien voulu nous faire l'honneur de présider le jury et, d'autre part pour ces encouragements tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance au Dr. MEZOUAR DJAMILA, de nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Nos remerciements vont ensuite aux monsieur BENHLIMA, et monsieur HOUARI, techniciennes du laboratoire de biochimie, pour leur disponibilité au quotidien, leur bonne humeur, leur aide, leur encouragement et leur grande sympathie. Les mots les plus distingués et les phrases les plus respectueuses ne peuvent exprimer notre profond respect pour eux.

Nous ne saurons oublier Madame LIELA qui a conjugué gentillesse et aide précieuse dans l'étude microbiologique apportée à notre travail, un grand merci pour ses nombreux conseils éclairés et pertinents.

Une pensée particulière pour tous les enseignants du département SNV qui ont participé à notre formation de Master, pour leurs rigueurs scientifiques et leurs conseils.

Nous devons et nous adressons un remerciement tout particulier, avec toute notre affection et notre reconnaissance, à tous nos collègues de la promo TAACQ, qui ont rendu ces moments difficiles agréable, leur amitié et leur disponibilité. Aussi pour leur aide tout au long des échantillonnages.

Dédicaces

*Je voudrais remercier dieu pour toute l'énergie qu'il m'a donné durant
ces cinq années.*

Je dédie cette recherche

*À la plus belle créature que Dieu a créée sur terre
A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma
vie et mon bonheur ; maman que j'adore.*

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour,

*À mon frère et mes sœurs, kamelia , Rania , Nihed et Abed raoufe, A qui je
souhaite un avenir radieux plein de réussite*

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient, Toujours à
mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon Chemin d'études, mes
aimables amis, collègues d'étude, Ikram , Kheira , Imene .*

Merci d'être toujours là pour moi.

Baouchra

Dédicaces

J'ai l'honneur et le plaisir de dédier le fruit de mon travail accompagné d'un profond amour :

A celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoir, à la source d'amour incessible, à la mère des sentiments fragiles qui ma bénie par ces prières
.... **Ma mère.**

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux, tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices.

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect.... **Mon cher père**, merci d'être toujours à mes coté tout au long de ce travail, merci pour ton aide, tes conseils et tes encouragement.

A mes adorables sœurs **HALIMA, DJAHIDA et HOUDA** et mes très chers frères **AMIN, ABDELKADER et AYOUB**, je vous aime de tout mon cœur.

A ma grande mère **Djohar**, et toutes les personnes de ma grande famille.

A mes nièces **GHOFRAN et ILHEM**, qui savent toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.

A mes meilleurs amies **IMENE, BOCHERA, LINDA et IKRAM**, qui m'avait toujours soutenu et encourager durant ces années d'études.

Merci à ceux et à celles que j'ai pu malencontreusement oublier et envers qui je m'excuse par avance.

Kheira

Dédicaces

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

À la flamme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère ; que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles. Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

À mon support dans ma vie, qui m'a appris, m'a supporté et m'a dirigé vers la gloire... Mon père ; Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Merci d'être toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

À mon adorable sœur AMEL, et mes chères frères KHALED et RAYEN. Puisse Dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout réussite.

À ma grand-mère et mes grands-pères, mes oncles et mes tantes. Que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

À la meilleure personne que j'ai connu dans ma vie : RIADH. Merci énormément pour ton grand cœur, toutes vos qualités qui seraient trop longues à énumérer.

À mes chères copines HOUDA, et FATIMA qui n'a pas cessée de me conseiller, d'encourager et de soutenir tout au long de mes études. Que dieu les protège et leur offre la chance et le bonheur.

Sans oublier mes binômes ; BOCHRA et KHEIRA, un immense merci, venant du fond du cœur pour leur soutien moral, leurs patiences et leurs compréhensions tout au long de ce projet.

Grace à vous tous, je suis là aujourd'hui devant vous pour vous exprimer, de tout mon cœur, ma profonde gratitude.

Imen

ملخص

تعتبر الموارد الصيدية من أكثر المواد القابلة للتلف بسبب إمكانية التلوث بواسطة الملوثات. كما أن طرق الحفظ المستخدمة ليست فعالة دائماً من حيث السلامة والجودة الغذائية. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الجودة الميكروبيولوجية والفيزيائية والكيميائية والإشعاعية لسماك الحبار المجمد، المستورد من الصين ، بالإضافة إلى جودتها الحسية. من ناحية أخرى ، تحديد نسب المعادن الثقيلة (Cu ، Zn ، Pb, Cd ،) كمؤشرات للتلوث. أظهرت النتائج وجود محتوى دهني مكافئ لتلك الموجودة في فئة السمك غير الدهني. قيم الأس الهيدروجيني ظهرت قلبية بمتوسط 7.29 إلى 08.01 . و بلغ إجمالي النيتروجين الأساسي المتطاير 28,45 مغ/ 100 مغ. كما كانت نتيجة الفحص للعناصر المعدنية الأربعة إيجابية، و تجاوز مستوى الرصاص معيار منظمة الصحة العالمية بـ 1.01 مغ / كغ. كما أظهرت النتائج وجود النويدات المشعة لكن بمستوى نشاط أقل بكثير من المعايير. أيضاً، التحليل الميكروبيولوجي أظهر الغياب التام للجراثيم المسببة للأمراض (السالمونيلا ، الكلوستريديوم المختزل للكبريت) مع وجود المكورات العنقودية (Staphylococcus) و (GAMT) بمعدل أقل من المواصفات الجزائرية.

كلمات دالة: الحبار المجمد المستورد ، المعادن الثقيلة ، الجودة الفيزيائيةوكيميائية ، الجودة

الإشعاعية، الجودة الميكروبيولوجية.

RESUME

Les produits halieutiques sont considérés comme des aliments les plus périssables en raison de la possibilité de contamination par des polluants. Les méthodes de conservation utilisées ne sont pas toujours efficaces en termes de salubrité et qualité nutritive. L'objectif de cette étude est d'évaluer la qualité microbiologique, physicochimique et radiologique des calamars surgelés, importé de la Chine, ainsi que sa qualité organoleptique. D'autre part la mise en évidence de la bioaccumulation des quatre métaux lourds (Pb, Cu, Cd et Zn,) comme indicateurs de pollution. Les résultats trouvés présentent des teneurs en lipides équivalentes à celle de la catégorie des poissons maigres. Des valeurs du pH alcalins avec une moyenne de 7,29 à 08,01. Un dosage d'ABVT de 28.45 mg /100g. Le résultat du dosage pour les quatre éléments s'est démontré positif, le taux trouvée pour le Pb a dépassé celle de la norme OMS (1,01 mg/Kg). Aussi, la présence des radionucléides avec un niveau d'activité largement inférieure à ceux fixés par les normes. Toutefois, l'analyse microbiologique a révélé l'absence totale des germes pathogènes (salmonelle, clostridium sulfito-réducteur) et la présence des Staphylococcus, et la flore mésophile aérobie totale avec un taux inférieur aux normes algériennes.

Mots clé : Calamar surgelé importé, qualité physico-chimique, métaux lourds, qualité radiologique, qualité microbiologique.

Abstract

Fish products are considered to be the most perishable foods due to the possibility of contamination by pollutants. The preservation methods used are not always effective in terms of safety and nutritional quality. The objective of this study is to evaluate the microbiological, physicochemical and radiological quality of frozen squid, imported from China, as well as its organoleptic quality. On the other hand, the highlighting of the bioaccumulation of four heavy metals (Pb, Cu, Cd and Zn) as indicators of pollution. The results found show lipid levels equivalent to that of the lean fish category. Alkaline pH values with an average of 7.29 to 08.01. An ABVT dosage of 28.45 mg / 100g. The result of the assay for the four metal elements was positive; the level found for Pb exceeded that of the WHO standard (1.01 mg/Kg). Also, the presence of radionuclides with a level of activity much lower than the standards. However, the microbiological analysis revealed the total absence of pathogenic germs (salmonella, sulfito-reducing Clostridium) and the presence of Staphylococcus and the total aerobic mesophilic flora, with a rate lower than Algerian standards.

Keywords: Imported frozen squid, heavy metals, physical and chemical quality, microbiological quality, radiological quality

Tables des Matières

Tables des matières.....	ix
Liste des Abréviations.....	xi
Liste des Tableaux.....	xii
Liste des Figures.....	xiii
Résumés.....	vi

1^{ère} Partie : Introduction Générale

Introduction	1
--------------------	---

Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et Méthodes

I. Matériel et Méthodes.....	7
I.1. Matériels utilisés.....	7
I.1.1. Matériel biologique	7
I.1.2. Matériels et produits	8
I. 2. Méthodologie de travail	8
I. 2. 1. Enquête sur la consommation des calamars surgelés.....	8
I.2. 2. Échantillonnage et conditionnement	9
I.2. 3. Analyse des paramètres physico-chimiques	9
I. 2. 3. 1. Mesure de pH	9
I. 2. 3. 2. Teneur en eau	10
I. 2. 3. 3. Teneur en cendres.....	11
I. 2. 3. 4. Dosage de la matière grasse	11
I.2. 3. 5. Dosage d'ABVT	14
I. 2. 3.6. Dosage des métaux lourds	16
I. 2. 3.6. Analyse de la radioactivité des échantillons.....	20
I.2. 4. Analyse des paramètres microbiologiques	23
I. 2.4.1. Principe	23
I. 2.4.2. Préparation de la solution mère.....	23
I. 2.4.3. Préparation des dilutions.....	24

I. 2.4.4. Expression des résultats.....	24
I. 2.4.5. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale	25
I. 2.4.6. Dénombrement des Coliformes fécaux.....	25
I.2. 4.7. Recherche et dénombrement des staphylocoques.....	17
I.2. 4. 8. Recherche des Clostridium sulfito-réducteurs	18
I.2. 4. 9. Recherche et dénombrement des salmonelles	19
I.2.5. Analyse statistique.....	33

Chapitre 2 : Résultats et Discussions

II. Résultats et Discussions	35
II.1. Résultats de l'enquête	35
II. 2. Analyse des paramètres physico-chimiques.....	35
II. 2. 1. Mesure de pH	35
II. 2. 2. Teneur en eau	36
II. 2. 3. Teneur en cendres.....	37
II. 2. 4. Teneur en matière grasse.....	37
II. 2. 5. Dosage d'ABVT	38
II. 2. 6. Dosage des métaux lourds	39
II. 2. 7. Analyse de la radioactivité des échantillons	39
II. 3. Analyse des paramètres microbiologiques	42
II. 3. 1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale	43
II. 3. 2. Dénombrement des Coliformes fécaux.....	45
II. 3. 3. Recherche et dénombrement des staphylocoques.....	46
II. 3. 4. Recherche des Clostridium sulfito-réducteurs	47
II. 3. 5. Recherche et dénombrement des salmonelles.....	49
II. 3. 6. Récapitulation des résultats d'analyses microbiologiques.....	50
Conclusion.....	52
Références bibliographiques	55
Annexes	60

Liste des abréviations

ABVT	: Azote Basique Volatil Total	NF	: Norme Française
°C	: Degré Celsius	PCA	: Plate Count Agar
²³²Th	: Thorium 232	⁴⁰K	: Potassium 40
AOAC	: Association of Official Analytical Chemists	P.E	: l'éther de pétrole
Cd	: Cadmium	QMS	: Qualité Microbiologique Satisfaisante
CE.	: Cotation Européenne	Ppm	: Partie par million
CF	: Coliformes fécaux	QMNS	: Qualité Microbiologique Non Satisfaisante
Cu	: Cuivre	PH	: Potentiel d'hydrogène
EPT.	: Eau Peptonée Tomponnée	SAF	: spectroscopie d'absorption atomique à flamme
FAO	: Food and Agriculture Organisation	SA	: Staphylococcus aureus
FMAT	: Flore Mésophile Aérobie totale	T°	: Température
GN	: Gélose nutritive	Ufc	: Unité formant colonie
GT	: germes totaux	TCA	: Tri-cloro-acétique
ISO	: Organisation International de Standardisation	VF	: viande-foie
Kg	: Kilogramme	VRBL	: Violet Red Bile Glucose Agar
Min	: Minute	PB	: Plomb
Bq	: Becquerel	²³⁸U	: Uranium 238
mSv :	: milliSievert (millième de Sievert)	MA	: Qualité Microbiologique Acceptable
Zn	: Zinc		

Liste des tableaux

Tableau 1	Matériel et produits utilisés dans les différents dosages et analyses	8
Tableau 2	Concentrations des standards et les quantités prélevées de la solution mère	17
Tableau 3	Caractéristiques des radionucléides testés	21
Tableau 4	Différentes valeurs du pH mesurées des calamars surgelés	36
Tableau 5	Différentes valeurs de la teneur en eau des calamars surgelés	37
Tableau 6	Différentes valeurs de la teneur en cendre des calamars surgelés.	37
Tableau 7	Différentes valeurs de la teneur en matière grasse dans les calamars surgelés	39
Tableau 8	Teneurs des métaux lourds analysés dans les échantillons de calamars	33
Tableau 9	Concentrations d'activité des radionucléides et leurs énergies dans l'échantillon de calamars	41
Tableau 10	Niveau de contamination du produit par les GMAT et la qualité microbiologique du calamar surgelé selon les normes algériennes.	43
Tableau 11	Niveau de contamination du produit par les coliformes fécaux et la qualité du calamar surgelé selon les normes algériennes.	45
Tableau 12	Niveau de contamination du produit par <i>staphylococcus aureus</i> et la qualité microbiologique du calamar surgelé selon les normes algériennes.	46
Tableau 13	Niveau de contamination du produit par <i>Clostridium sulfito-réducteurs</i> et la qualité du Calamars surgelés selon les normes algériennes	47
Tableau 14	Niveau de contamination du produit par <i>salmonella</i> et la qualité du calamar surgelé selon les normes algériennes	49
Tableau 15	Résumé de résultats d'analyses microbiologiques des échantillons de calamars surgelés comparés avec les normes Algériennes.	50

Liste des figures

Fig. 1 :	Echantillon de calamar surgelé importé	7
Fig. 2 :	Extraction des lipides au soxhlet par l'éther de pétrole	13
Fig. 3 :	Evaporateur rotatif	13
Fig. 4 :	Montage d'entraînement à la vapeur utilisé dans le dosage de l'ABVT	15
Fig. 5 :	Principe du dosage de l'ABVT	15
Fig. 6 :	Schéma du principe de fonctionnement de la SAAF	18
Fig. 7 :	Minéralisation de l'échantillon	19
Fig. 8 :	Photo du SAAF	19
Fig. 9 :	Spectromètre gamma et le détecteur NAI (Tl) 2×2 pouces	22
Fig. 10 :	Protocole d'analyses microbiologiques	32
Fig. 11 :	Dilutions des échantillons de calamars surgelés	44
Fig. 12 :	Résultats de dénombrement des GAMT dans les solutions mères	44
Fig. 13:	Résultats de dénombrement des coliformes fécaux dans les calamars surgelés	45
Fig. 14 :	Résultats de la recherche des <i>staphylococcus aureus</i> dans les calamars surgelés	48
Fig. 15 :	Résultats de la recherche des <i>Clostriduimsulfito</i> -réducteurs dans les calamars surgelés	48

Introduction Générale

Introduction :

Les produits halieutiques jouent un rôle fondamental en matière de nutrition et de sécurité alimentaire au niveau mondial car ils sont une source importante de nutriments et de micronutriments qui revêtent une portée cruciale pour des régimes alimentaires diversifiés et sains. Durant les dernières décennies, le consommateur se rend de plus en plus compte des avantages de la consommation des produits halieutiques pour la santé. L'importance de leur consommation en tant que catégorie d'aliments est renforcée par le fait que ces denrées contiennent une grande partie des vitamines et des minéraux nécessaires pour combler certaines carences nutritionnelles les plus graves et les plus habituelles. En outre, les effets bénéfiques de la consommation de poisson sur la santé mentale et en matière de prévention des maladies cardiovasculaires, des accidents vasculaires cérébraux et de la dégénérescence musculaire liée à l'âge sont confirmés (FAO, 2018).

La consommation de poisson par personne est passée de 9,0 kilogrammes en 1961 à 20,2 kg en 2015, soit une augmentation moyenne d'environ 1,5 pour cent par an. Les estimations préliminaires concernant 2016 et 2017 font apparaître une hausse: la consommation était de 20,3 kg et 20,5 kg, respectivement. En 2016, sur les 171 millions de tonnes de poisson produites dans le monde, quelque 88 %, soit plus de 151 millions de tonnes, ont servi à la consommation humaine directe. Cette part a augmenté de manière appréciable au cours des dernières décennies puisqu'elle ne s'élevait qu'à 67 % dans les années 1960 (FAO, 2018).

Actuellement, de nombreuses études portent sur l'état des stocks de céphalopode en vue de mettre en place une gestion rationnelle et d'évaluer les risques de surexploitation (Pierce & Guerra, 1994). Néanmoins, cet objectif nécessite une bonne connaissance et une bonne compréhension de la dynamique de ces populations et donc des paramètres fondamentaux tels que la mortalité naturelle, la reproduction, la croissance, la durée de vie et le recrutement (Chalier, 2005). Due à la place importante du Calamar sur les divers marchés mondiaux et nationaux, la recherche s'est beaucoup intéressée au Calamar au

cours des dernières années. Elle étudie plus particulièrement son cycle de vie pour son introduction comme une nouvelle espèce en aquaculture (Sykes *et al.*, 2014).

Les calmars constituent un important maillon de la chaîne alimentaire océanique et certaines espèces sont comestibles pour l'homme ; ils ont donc une importance commerciale considérable à travers le monde. Le calmar commun est l'espèce la plus consommée par l'homme. Souvent, les appellations gastronomiques locales ne distinguent pas les seiches des calmars (Adrien, 2004). Il devient le produit halieutique le plus commercialisé, grâce à son excellente valeur nutritive. Le calmar et le produit halieutiques en général, jouent un rôle fondamental en matière de nutrition et de sécurité alimentaire au niveau mondial car il est une source précieuse des protéines. Le calamar fournit des protéines de qualité, bien assimilées et utilisées par l'organisme. Des minéraux et oligoéléments. Le calamar est une très bonne source de minéraux, dont le phosphore, potassium, magnésium, fer et cuivre, apportant aussi des oligoéléments comme le manganèse et le sélénium. Des vitamines. Le calamar est riche en vitamines du groupe B, nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme. Peu de lipides. Le calamar est pauvre en lipides. Néanmoins, son taux de cholestérol est un peu plus élevé que celui des autres fruits de mer (150 mg pour 100 g) (Anses, 2013).

La préservation de la biodiversité des ressources marines vivantes est une nécessité pour notre vie quotidienne. En plus de l'emploi et le revenu, elles fournissent une très bonne source d'éléments nutritifs. Dans beaucoup de pays où la consommation de protéines est faible, le poisson et les produits de la mer représentent la source principale de protéine animale. Alors qu'aujourd'hui, la production des pêcheries dans le monde a connu une nette dégradation en raison notamment, du phénomène de la surexploitation des principaux stocks d'intérêt économique (FAO, 2011). C'est dans ce contexte que s'est développée l'aquaculture mondiale (Huillery, 2011). L'aquaculture a elle seule à fournir 76% de production mondiale de poisson d'eau douce (FAO, 2008). La production aquacole mondiale a augmenté régulièrement au cours des dernières années. En 2012, elle est intensifiée de 12% par rapport à 2011 (d'une moyenne de 59 millions de tonnes en 2011 à 66,6 millions de tonnes en 2012) (FAO, 2014).

Chaque année depuis 1991, la Chine produit plus de poisson d'élevage destiné à la consommation humaine que tous les autres pays réunis. Bien que sa part baisse progressivement depuis la fin des années 1990, l'importance considérable de son aquaculture et les incidences de celle-ci au plan de l'approvisionnement mondial en poisson ne sont pas près de s'estomper. Depuis que la production de poisson d'élevage destiné à la consommation humaine a dépassé pour la première fois la production de poisson sauvage, en 1993, la part de l'aquaculture a augmenté constamment, jusqu'à atteindre 74 % en 2016, et devrait continuer de croître. La capacité de la Chine de nourrir sa nombreuse population avec du poisson produit par l'aquaculture locale contribue à la sécurité alimentaire et à la nutrition mondiale (FAO, 2018).

Au cours des 50 dernières années, les humains ont changé les écosystèmes plus rapidement et plus profondément qu'au cours de toute période comparable de l'histoire de l'humanité. Ces changements ont contribué à des gains substantiels nets dans le développement du bien-être humain et de l'économie à des coûts en croissance sous la forme de la dégradation de nombreux services écosystémiques. L'un des paramètres écosystémiques signalé comme dégradé dans l'évaluation des écosystèmes en début du millénaire sont les pêches de capture. Les pêches de capture mondiales ont atteint un plateau d'environ 94 millions de tonnes, dont au moins la moitié des stocks mondiaux de poissons reconnus pleinement exploités et environ 32 % surexploités ou épuisés (FAO, 2020). Sauf traités d'urgence, ces problèmes, couplés avec des pratiques de pêche indésirables tels que la surpêche, la pêche illicite, non déclarée et non réglementée (INDNR) et l'utilisation des méthodes destructrices, vont diminuer substantiellement les avantages que les futures générations pourraient obtenir des écosystèmes (Évaluation des écosystèmes en début du millénaire, 2005).

D'autant plus, l'écosystème marin a été affecté ces dernières années par une pollution grandissante et ce quelle engendre comme épuisement de la richesse naturelles. Les multiples activités humaines occasionnent des rejets de substances chimiques vers le milieu aquatique terrestre ou marin. Ces rejets sont de nature et d'origines variées qu'ils soient diffus comme les eaux de ruissellement des zones urbanisées et des zones rurales, les retombées atmosphériques ou au contraire collectées comme les émissaires des eaux usées urbaines et des effluents industriels. L'ensemble de ces apports contaminants

toxiques peut constituer une menace pour l'équilibre des écosystèmes aquatiques (Boutiba, 1996). Les conséquences de cette pollution peuvent être néfastes sachant qu'il existe à proximité des points de déversement des activités de pêche et d'aquaculture.

D'autre part, le poisson considéré comme l'un des aliments les plus périssable en raison de possibilité de contamination par plusieurs polluants comme les bactéries, métaux lourds et perte de sa qualité, et par conséquent va subir des altérations lorsqu'il n'est pas bien conservé et peut entraîner des toxi-infections alimentaires (Huillery, 2001). Il est important d'évaluer les indicateurs de la détérioration, la formation de composition toxique et les fraude commerciales à fin de respecté les normes de sécurité imposé par les pays importateurs (OMS, 1998). Mais aussi, la congélation et surgélation comme méthodes de conservation peuvent avoir un effet négatif sur la qualité nutritionnelle du poisson (Rosset, 2002).

Durant ces dernières années, le marché Algérien s'est ouvert à l'extérieur et on a vu apparaitre de nouveaux produits de consommation telle que les poissons surgelés. Malgré leurs richesse nutritionnelle ; leurs consommation pourrait représenter un risque sanitaire associé à leurs possible contamination par des produits chimiques. En plus, la durée de leurs conservations peut atténuer leurs valeurs nutritionnelles. Aussi, les niveaux de métaux lourds dans les écosystèmes marins méritent beaucoup d'attention en raison de leur potentiels problèmes écologiques ainsi que la sécurité des produits de la pêche, et de la mer (Wang et *al.*, 2005). Par conséquent une meilleure compréhension du statut actuel de la pollution des écosystèmes côtiers des pays d'importation particulièrement la Chine autant qu'un grand pays exportateur de ces produits, devient un souci de santé publique.

C'est dans ce contexte que nous avons effectué ce travail, dont l'objectif général est d'évaluer la qualité hygiénique et physicochimique des calamars surgelés, importé de la Chine, ainsi que sa qualité organoleptique. D'autre part la mise en évidence de la bioaccumulation des métaux lourds comme indicateurs de pollution. Ainsi qu'une analyse radiologique, du fait que c'est un produit importé d'un pays qui connaît un développement industriel, agricole et urbain accompagné inévitablement par des problèmes de pollution de l'environnement, particulièrement l'écosystème aquatique.

Pour atteindre notre objectif visé, le travail s'articule autour des éléments suivants:

1. Collecte des échantillons des calamars surgelés;
 - *A partir du marché local (Commune du chef lieu de la Wilaya de Tiaret).*
2. Enquête sur la consommation des poissons surgelés et en particulier les calamars dans la wilaya de Tiaret. ;
 - *Un sondage au près de la population ciblée à travers un questionnaire*
3. Evaluation de quelques paramètres physicochimiques ;
 - *PH, dosage de la matière grasse, dosage de l'Azote Basique Volatil Total (ABVT) et le dosage des métaux lourds*
4. Evaluation microbiologique ;
 - *A travers la recherche et le dénombrement de la flore aérobie mésophile total, les coliformes fécaux, salmonelles, Staphylococcus aureus et Clostridium Sulfuto-réducteur.*
5. Analyse radiologique ;
 - *Détermination de la radioactivité par Spectrométrie gamma*

***Partie
expérimentale***

Chapitre 1

Matériel et Méthodes

I. Matériel et Méthodes :

L'objectif de notre travail consiste à l'évaluation de la qualité microbiologique, physicochimique et radiologique des calamars surgelés issu de l'importation du Chine. Le travail commence par la détermination des paramètres physicochimiques (PH, dosage de la matière grasse, dosage de l'Azote Basique Volatil Total (ABVT) et le dosage des métaux lourds). Puis, une analyse microbiologique à travers la recherche et le dénombrement de la flore aérobie mésophile total, les coliformes fécaux, salmonelles, *Staphylococcus aureus* et Clostridium Sulfuto-réducteur. Et enfin, une analyse radiologique, à travers la détermination de la radioactivité par Spectrométrie gamma.

En parallèle, le travail comporte une enquête sur la consommation des poissons surgelés dans la wilaya de Tiaret.

I.1. Matériel utilisés :

I. 1. 1. Matériel biologique :

Le matériel biologique utilisé pour ce travail est du calamar surgelé importé de la Chine (figure 01), ce dernier est conditionné dans un film plastique emballé. Ce produit est disponible au niveau de différents points de vente de la wilaya de Tiaret destinés aux consommateurs.



Figure N° 01 : Echantillon de calamar surgelé importé (*Photo originale*)

I. 1.2. Matériel et produits :

Le Tableau 1 ci-dessous récapitule le matériel ainsi que les produits utilisés dans notre travail pour pouvoir réaliser les différents types d'analyse.

Tableau 1: Matériel et produits utilisés dans les différents dosages et analyses.

Matériel	Appareillage	Réfrigérateur, Etuve, Four, Agitateur magnétique, Vortex, pH mètre, appareil Soxhlet, Rotavapor, dessiccateur, Spectrophotomètre d'absorption atomique à flamme, Spectromètre gamma, détecteur NAI (TI) 2×2 pouces, Micro-ordinateur.
	Autres	Boîtes de pétri, tubes à essais stériles, mortier et pilon, verreries, balance analytique.
Produits	Réactifs	Hcl ; HNO3 ; Acide borique 2% ; H2SO4 ; NaoH ; Ether de pétrole ;
	Milieux de culture	PCA, VF, BP, SFB, VRBL
	Autres	Eau distillée, désinfectant (Alcool).

I. 2. Méthodologie de travail :

I. 2. 1. Enquête sur la consommation des calamars surgelés:

Nous avons réalisé un sondage auprès de la population de la wilaya de Tiaret afin d'évaluer le taux de consommation des produits surgelés et à quel point les consommateurs des calamars surgelés en particulier sont satisfaits, Le sondage était sous forme de questionnaire. Les réponses des questions du sondage ont été présentées comme une option de deux ou trois suggestions (Annexe N°01). L'interrogatoire a touché 140 personnes de différents âges. La période de sollicitation s'est étendue du mois de Février jusqu'au mois d'Avril.

I. 2.2. Échantillonnage et conditionnement :

L'échantillon de calamar surgelé, a été obtenu d'une façon aléatoire d'un point de vente de la ville de Tiaret. Puis, cet échantillon a été conservé sous une température de -15°C avant d'être utilisés pour les différents dosages et analyses.

La partie expérimentale (analyses physicochimiques et microbiologiques) a été réalisée au sein des laboratoires de technologie alimentaires et de microbiologie au niveau de la faculté de science de la nature et de la vie, de l'université IBN KHALDOUN –Tiaret durant une période d'un mois (Février). Tan disque que le dosage des métaux lourds et l'analyse radiologique ont été réalisés au niveau du laboratoire de spectrochimie et pharmacologie structural, Université de Tlemcen.

I. 2. 3. Analyse des paramètres physico-chimiques :

La recherche d'une méthode d'analyse physico-chimique se fait communément en consultant les manuels publiés périodiquement par des organismes internationaux. Dans notre travail, tous les dosages sont effectués selon les méthodes d'analyse physicochimique applicables aux domaines alimentaires, éditées par l'AOAC (Association of Official Analytical Chemists).

I. 2. 3. 1. Mesure de pH :

Le pH représente la concentration des ions hydrogènes dans une solution. Cette mesure est importante car le ph régit un grand nombre d'équilibre physicochimiques (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, 2017). Le pH est un paramètre important qui montre la diminution de la qualité de la chair durant le stockage. Le procédé technologique est influencé par le développement de la rigor, la température post mortem et le pH (Greaser et Pearson, 1999). Dans notre étude les valeurs de pH ont été mesurées selon Conte-junior *et al.*, (2008) à l'aide d'un pH-mètre numérique étalonné HANA instruments HI 2211 PH/ORP. La mesure s'effectue directement à sur un extrait dilué 1/10 d'un échantillon de calamar broyé et homogénéisé à l'aide d'un hachoir à viande.

Mode opératoire :

- ✦ Broyer et homogénéiser l'échantillon en faisant passer deux fois dans le hachoir à viande et mélanger.

- ↻ Prélever une quantité de l'échantillon environ 10 g puis ajouter 90 ml d'eau distillé pour immerger ou enrober les électrodes.
- ↻ Etalonner le pH-mètre en utilisant une solution tampon de pH exactement connu et aussi proche que possible de pH de la solution à déterminer.
- ↻ Introduire les électrodes dans la prise d'essai et régler le système de correction de la température du pH-mètre à la température de la prise d'essai.
- ↻ Lire le pH directement sur l'échelle de l'appareil à 0,05 unité pH près, lorsqu'une valeur constante a été obtenue.
- ↻ Effectuer trois déterminations sur le même échantillon.

On prend comme résultat la moyenne arithmétique des valeurs mesurées.

I. 2. 3. 2. Teneur en eau :

La teneur en eau a été estimée par la dessiccation de l'échantillon (10 g) pendant 03 heures à l'étuve à 115 °C (AFNOR, 1980).

↻ Mode opératoire

- ↻ Sécher des creusés à l'étuve durant 15 min à 103 °C.
- ↻ Peser 10 g de l'échantillon et les placer dans l'étuve réglée à 103 °C pendant 03 heures.
- ↻ Retirer les creusés de l'étuve, les placer dans le dessiccateur, laisser refroidir et peser.
- ↻ L'opération est répétée jusqu'à obtention d'un poids constant.

↻ Expression des résultats

La teneur en eau est calculée selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{M1 - M2}{P} \times 100$$

D'où :

H% : Humidité

M1 : Masse de la capsule + matière avant séchage(g)

M2 : Masse de la capsule +après séchage (g)

P : Masse de la prise d'essai

I. 2. 3. 3. Teneur en cendres:

La teneur en matière minérale des échantillons est déterminée après calcination selon la méthode standard (AOAC, 1995). Un (1) g d'échantillon de calamar est placé dans un creuset en porcelaine préalablement pesé. Le creuset est mis dans un four à mufles à 600°C pendant 6 heures. Le creuset est refroidi à température ambiante à l'abri de l'humidité dans un dessiccateur. Le creuset contenant le résidu est pesé. Le taux de cendres contenu dans l'échantillon se calcule selon la formule suivante :

$$\text{Cendre (\%)} = \frac{m_2}{m_1} \times 100$$

D'où :

m1 : Masse initiale de l'échantillon.

m2: Masse du résidu après calcination.

La mesure de la différence entre le poids sec initial et le poids sec final permet de déduire la teneur en cendre de l'échantillon.

I. 2. 3. 4. Dosage de la matière grasse :

La teneur en matière grasse totale des viandes et des produits à base de viande s'exprime en pourcentage en masse selon l'arrêtée interministérielle de 21 mai, 2006 de journal officiel algérien N°33. En générale, la matière grasse représente les lipides qui sont insolubles dans l'eau et très solubles dans les solvants organiques, tel que l'éther de pétrole. Dans ce travail, la teneur total en lipides a été déterminé par la méthode d'extraction au soxhlet et l'éther de pétrole a été utilisé comme solvant selon la méthode décrite par AOAC, (2012) (Figure N° 2). Il est à noter que la méthode soxhlet est la méthode de référence utilisée pour la détermination de la matière grasse dans les aliments solides déshydratés. C'est une méthode gravimétrique, puisqu'on pèse l'échantillon au début et la matière grasse à la fin de l'extraction.

Principe de la méthode

L'échantillon solide est pesé et placé dans une capsule de cellulose. Puis, il est extrait en continu par de l'éther de pétrole à ébullition (P.E. 35C°) qui dissout graduellement la matière grasse. Le solvant contenant la matière grasse retourne dans le ballon par déversement successifs causés par un effet se siphon dans le coude latéral.

Comme seuil le solvant peut s'évaporer de nouveau, la matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Une fois l'extraction terminée, l'éther est évaporé, généralement sur évaporateur rotatif (Figure N° 3) et la matière grasse est pesée (AOAC, 1990).

Mode opératoire

- ↻ Peser dans une fiole conique 5 g d'échantillon, et ajouter 25 ml d'eau distillée.
- ↻ Ajouter 50 ml Hcl (4N) et placer la fiole avec un dispositif de réfrigération.
- ↻ Chauffer 30 min à 100 °C et filtrer le mélange.
- ↻ Avec de l'eau distillée chaudes Laver le filtrat fois plusieurs.
- ↻ Placer le papier filtre dans la cartouche d'extraction, et couvrir avec du coton cadré.
- ↻ Sécher à l'étuve régler à 100 C° pendant 30 min et laisser refroidir à température ambiante.
- ↻ Peser la fiole conique séchée vide et mettre dans la fiole l'éther de pétrole (125 ml ou plus).
- ↻ Placer la cartouche dans l'extracteur qui sera lie à un système réfrigérant, et chauffer à 100 °C pendant 4 h.
- ↻ Récupérer la fiole contenant le solvant et purifier par distillation.
- ↻ Extraire l'éther de pétrole par un évaporateur rotatif et sécher la fiole à l'étuve.
- ↻ Peser après séchage la fiole contenant la matière grasse extraite (fiole + matière grasse).

Expression des résultats

La teneur en matière grasse est calculée selon la formule suivante :

$$MG = \frac{\text{poids (fiole + MG)} - \text{poids (fiole vide)}}{\text{poids d'echantillon}} \times 100$$



Figure N° 02 : Extraction des lipides au Soxhlet par l'ether de pétrole (*photo originale*)



Figure N° 03 : Evaporateur rotatif (*photo originale*)

I. 2. 3. 5. Dosage d'ABVT :

L'azote basique volatile total est un indicateur d'altération qui est applicable principalement à la chair de poisson cru, issue de poissons entiers, de darnes ou de filets. Il résulte majoritairement de dégradation des protéines par l'action de bactéries ou enzymes présents dans les poissons. La méthode de référence, décrite dans le règlement (CE) N°2074/2005, consiste en la distillation d'un extrait déprotéinisé par trichloracétique (TCA) suivie d'une titration par un acide (L'ABVT étant formé de composés basique). L'échantillon doit consister en 100 g de chair environ, prélevées en trois endroits différents au moins et mélangés par broyage. Le respect d'un protocole de mesure standardisé est essentiel pour la fiabilité des résultats. Les résultats sont exprimées en mg d'azote pour 100g de chair (mg/100g) (Etienne, 1998).

Mode opératoire

Le dosage se fait en 03 étapes :

1. *Extraction des bases volatiles*

- Peser et broyer 100 g de calamar.
- Ajouter 200 ml acide trichloracétique (7,5%).
- Homogénéiser et filtrer.
- Récupérer 25 ml de filtrat dans un erlenmeyer.

2. *Entrainement à la vapeur (VAPODEST)*

Pour assurer cette étape, nous avons réalisé un montage d'entraînement à la vapeur au niveau du laboratoire pour remplacer l'appareil VAPODEST qui n'est pas disponible. Dans un ballon, 25 ml de filtrat ont été introduits, puis 6 ml de NaOH (10%) ont été ajoutés au gradué de 50 ml qui contient 10 ml d'acide borique.

3. *Titrage*

- Placer le bécher contenant 40 ml de distillat sur l'agitateur magnétique.
- Titrer le distillat avec une solution de d' H_2SO_4 à 0.1 N.
- Ajouter la solution d' H_2SO_4 à 0.1 N jusqu'à la complète décoloration.
- Noter le volume d' H_2SO_4 nécessaire pour neutralises le distillat.

➤ Expression des résultats

$$ABVT = \frac{(V_1 - V_0)1,4 \times 300}{25}$$

V_1 : Volume d'H₂SO₄ nécessaire pour neutraliser le distillat

V_0 : Volume d'H₂SO₄ nécessaire pour neutraliser l'essai blanc



Figure N° 04 : Montage d'entraînement à la vapeur utilisé dans le dosage de l'ABVT

(Photo originale)

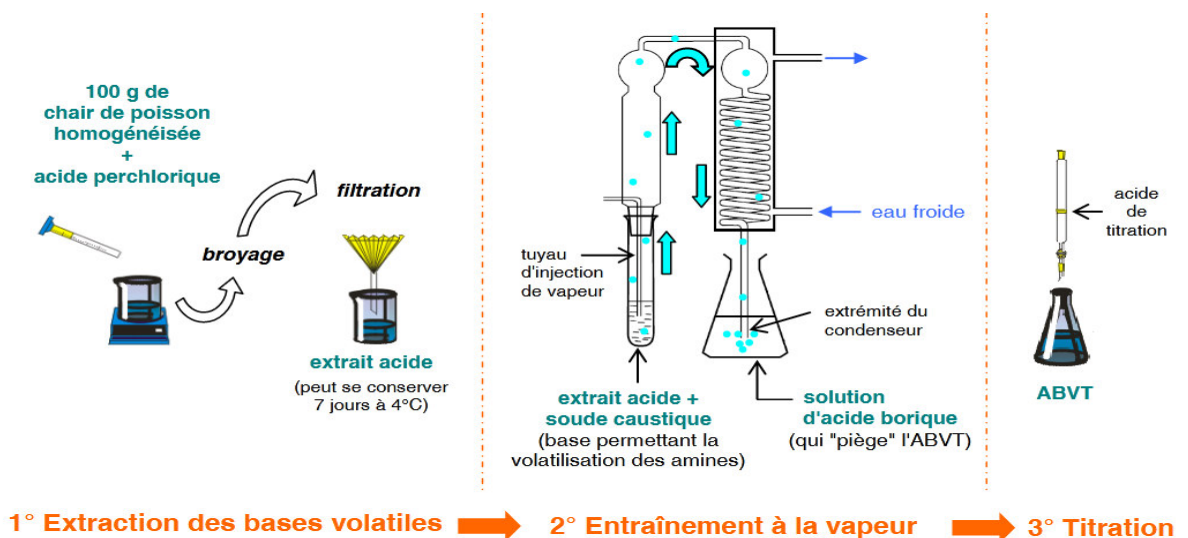


Figure N° 05 : Principe du dosage de l'ABVT

I. 2. 3. 6. Dosage des métaux lourds :

Dans l'objectif de déterminer les niveaux de contamination par les métaux lourds dans nos échantillons, nous avons utilisé la spectroscopie d'absorption atomique à flamme (SAAF). Nous avons pu évaluer quatre métaux lourds seulement (Pb, Cd, Cu et Zn). Le choix de ces éléments est basé sur la disponibilité de leurs standards.

Principe du SAAF

Le principe comme il est décrit par Walsh, (1955), consiste à aspirer l'échantillon sous forme liquide dans une flamme à une température de l'ordre de 1 700 à 2 550 °C, de sorte qu'il se forme une vapeur atomique. On irradie cette vapeur avec une lampe spectrale à cathode creuse. Ces lampes émettent des raies de transition des atomes recherchés. Seuls les atomes recherchés absorbent la radiation excitatrice. Ce qui nous permet de lier l'absorption lumineuse à la concentration des atomes étudiées (Figure 6). Cependant il y a toujours une absorption non spécifique si minime soit-elle. Cette dernière est significativement diminuée par l'emploi d'une lampe au Deutérium. En plus de la simple dilution ou de la minéralisation par voie humide souvent décrite, on préconise l'utilisation d'une solution de modificateur de matrice qui permet de transformer l'élément à doser en ses formes les plus stable thermiquement : composés oxydes, formes réduites ou phosphates, etc. La formation des atomes neutres est réalisée par la vaporisation et l'atomisation dans une flamme air-acétylène (Pradyt, 2004).

Etalonnage

Pour chaque métal à doser (Pb, Zn, Cu et Cd), nous avons préparé, une gamme d'étalons à différentes concentrations (en fonction du type de métal). A partir d'une solution mère de 1000 ppm, dans des tubes de 50 mL en complétant le volume avec la solution de dilution 1% d'acide nitrique. Le tableau 2 présente les quantités prélevées dans cette solution pour la préparation des concentrations des standards pour chaque élément. Quant aux standards du Cadmium, ils sont préparés à partir d'une solution intermédiaire de concentration égale à 100 ppm. La solution intermédiaire est préparée elle aussi à partir d'une solution mère de 1000 ppm par prélèvement de 10 ml qu'on dilue dans une fiole de 100 ml avec de l'acide nitrique 1%. Afin d'éviter d'éventuelle interférences dus à la matrice, chaque standard est préparé par un mélange de

concentration des différents éléments. Puis, nous avons fait passer les différents standards à travers le spectrophotomètre. A chaque concentration correspond une absorbance et l'ordinateur trace la courbe. A partir de cette courbe, l'ordinateur donne par lecture, après mesure de l'absorbance de chaque échantillon, la concentration du métal étudié dans la solution préparée (en mg. L⁻¹) (ISO, 1994).

Les teneurs des métaux lourds dans l'échantillon sont déterminés en mg/kg selon l'équation suivante:

$$C \left(\frac{mg}{Kg} \right) = \frac{(Cs - Cb) \times Fd}{PE \times 1000} \quad (\text{Chahid } et \text{ al.}, 2009)$$

D'où :

C : Concentration finale en métal

Cs : Concentration en métal dans la solution en mg. L⁻¹

Cb : Concentration en métal dans le blanc en mg. L⁻¹

Fd : Facteur de dilution (dans notre cas *Fd* = 5)

PE : Prise d'essai en g de l'échantillon.

Tableau 02 : Concentrations des standards et les quantités prélevées de la solution mère

Standards	Concentration 1		Concentration 2		Concentration 3	
	C	V	C	V	C	V
Métaux						
Pb	0,5	25	1,5	75	3	150
Cd	0,6	300	1,8	900	3,6	1800
Cu	1.5	75	4.5	225	9	450
Zn	0,5	25	1,5	75	3	150

(C) concentration des standards en ppm ; (V) volume prélevé de la solution mère pour la préparation des standards en µ L.

Mode opératoire :

a. Minéralisation des échantillons :

La minéralisation est réalisée selon la norme européenne NF EN 13805 (2002). Trois (3 g) de l'échantillon sont mis dans un creuset qu'on place dans l'étuve à une

température 110°C pendant 03 heures. Ils sont ensuite, placés dans un four à moufle pendant 15min à 450°C puis ils sont humectés avec de l'acide nitrique (HNO_3) et replacés dans le four à 350°C pendant 1h30 min (Figure 7).

b. Filtration et mise en solution :

Les solutions obtenues des différentes minéralisations ont été filtrées. Elles ont été ajustées à 25 ml puis elles ont été mises dans des godets et conservées au frais jusqu'à analyse par la SAAF.

c. Dosage des métaux lourds par la SAAF :

L'appareil utilisé pour notre travail est un spectrophotomètre d'absorption atomique à flamme (air/acétylène) de type AURORA Al 1200, doté d'un micro-ordinateur (figure 8). Il comporte :

- Un générateur d'atomes constitué par un dispositif de nébulisation, brûleur.
- Une flamme.
- Un système de sélection de la longueur d'onde.
- Un récepteur.

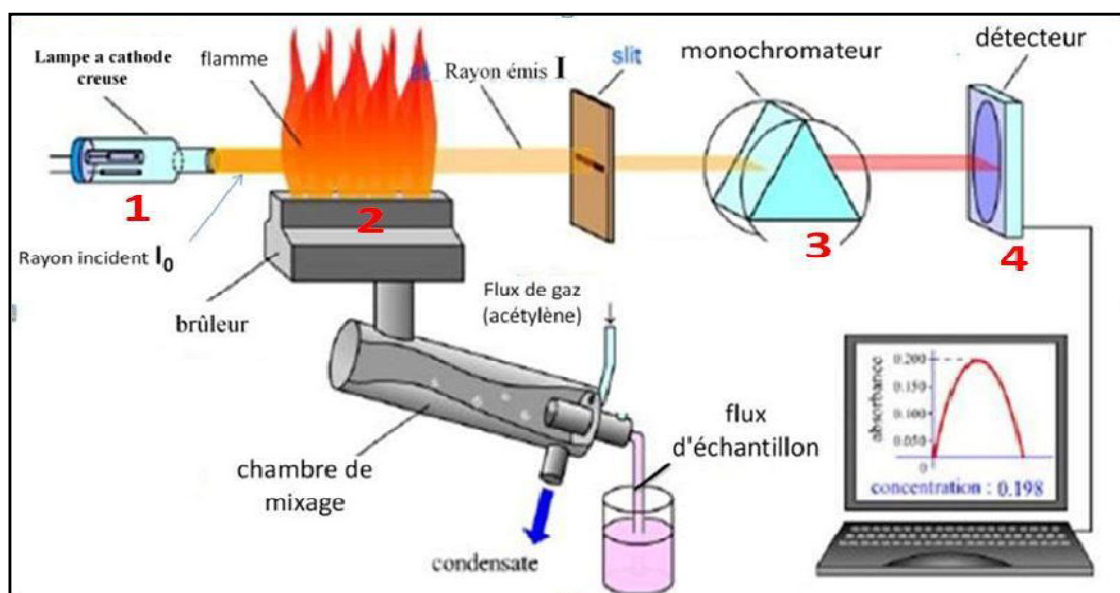


Figure N° 06 : Schéma du principe de fonctionnement de la SAAF
(<https://images.app.goo.gl/L2nRkW2beFBVpfar8>)



Figure N° 07 : Minéralisation de l'échantillon (*Photo originale*)



SAAF



Bouteille d'acétylène

Figure N° 08 : Photo du SAAF (*Photo originale*)

I. 2. 3. 7. Analyse de la radioactivité des échantillons:

I.2. 3. 7.1. Préparation des échantillons :

Les échantillons ont été décongelés et découpés en tranches. Ensuite, ils ont été maintenus exempt d'humidité avant la mesure de la radioactivité dans un four pendant (48h) à des températures modérées de 25-28 ° C afin d'atteindre un poids constant et éviter toute adsorption d'humidité (Abojassim, 2016). Ensuite, les échantillons ont été broyés par voie électronique, en utilisant un moulin électrique pour l'homogénéité, puis ont été tamisés.

Les échantillons ont été emballés dans des béciers volume constant, pour atteindre une bonne homogénéité autour du détecteur NaI (TI). À la fin, les béciers ont été stockés à l'obscurité sous froid pendant environ 21 jours avant la mesure, pour permettre un équilibre séculaire à étudier entre les radionucléides testés.

I.2. 3. 7.2. Appareil et méthode :

Dans notre étude, le matériau utilisé est NaI (TI) 2x2 détecteurs de scintillation de type (Canberra), avec le système complet de Spectrométrie gamma (figure 9) qui existe au niveau du laboratoire de recherche spectrochimie et pharmacologie structural (LSPS) de l'Université de Tlemcen. Le processus a été mené à l'aide du programme qui appelait Génie 2000.

Le tube à essai a été mis à vide dans le détecteur NaI (TI) pour évaluer la radioactivité provient par le rayonnement au fond, ou plus ordinairement appelé le « background ». Le temps de mesure est compté 24 heures. A la fin de cette période, le spectre correspondant est enregistré dans le PC connecté. Et on prend les énergies de certains radionucléides et nous notons les frappes afin de calculer la concentration de radioactivité.

Pour effectués les mesures il faut utiliser des sources radioactives pour l'étalonnage du détecteur puis le lancer. Le bruit de fond est dû à la radioactivité présente naturellement dans notre environnement. Du fait du caractère aléatoire de la radioactivité, il varie constamment d'un instant à l'autre et d'un lieu à un autre et pour que les résultats de la détection des radionucléides dans notre échantillon soient exacts il faut tout d'abord

mesurer le bruit de fond pour réduire la concentration de rayonnement présent naturellement. Afin de mesurer l'activité de ce dernier, il faut d'abord déterminer les nucléotides à rechercher et connaître leur énergies et efficacité ainsi que le nombre des coups (Tableau 3). Ces informations sont enregistrées sur l'écran de l'ordinateur grâce au logiciel génie 2000 qui affiche et analyser les données de spectrométrie gamma.

Tableau 03 : Caractéristiques des radionucléides testés (UNSCEAR, 2000).

Radionucléides	Energies	Probabilité d'émission Y%	Efficacité (ε)
²³⁸ U (²¹⁴ Pb)	351,9 Kev	0,35100 (35%)	0,357
²³² Th (²¹² Pb)	239 Kev	0,033 (3,3%)	0,64
²²⁸ Ac	912 Kev	0,28 (28%)	0,263
¹³⁷ Cs	661,6 Kev	0,85 (85%)	0,312
⁴⁰ K	1460,8 Kev	0,11 (11%)	0,212
⁶⁰ CO	1173 Kev	0,99 (99%)	0,23
	1332 Kev	0,99 (99%)	0,21

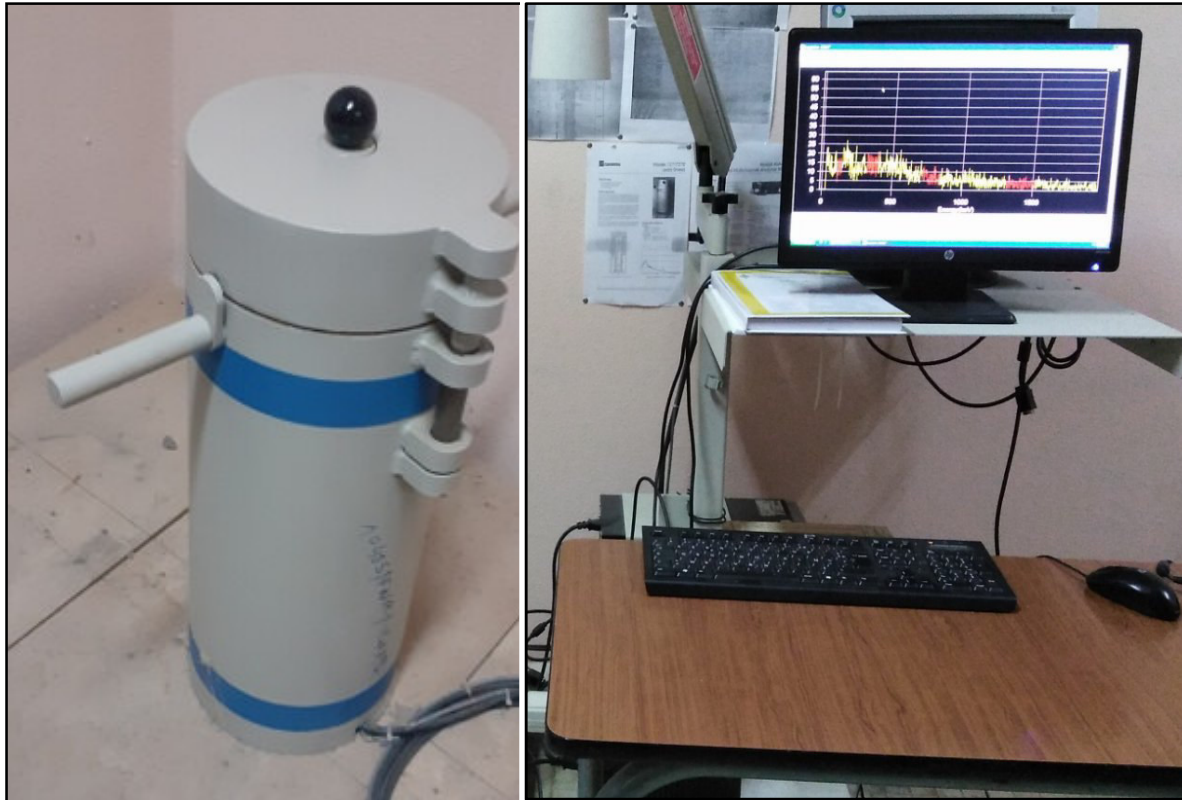


Figure N° 09 : Spectromètre gamma et le détecteur NAI (TI) 2×2 pouces
(Photo originale)

I. 2. 4. Analyse des paramètres microbiologiques :

Un critère microbiologique applicable à un aliment permet de s'assurer qu'un produit ou un lot de produits est acceptable compte tenu de l'absence ou de la présence du nombre de microorganismes, y compris les parasites, et/ou de la quantité de leurs toxines/métabolites, par unité de masse, de volume, de superficie ou par lot (Bousbia, *et al.* 2018).

Les différentes analyses microbiologiques effectuées sont issues des normes ISO et normes algériennes citées dans la réglementation relative aux poissons surgelés. Il était plus important de rechercher l'absence ou la présence de germes, ainsi que leur nombre, que de déterminer l'espèce ou la variante comme en bactériologie clinique (Roua, 1988).

Les germes recherchés dans un calamar surgelé importé appartiennent aux groupes des germes suivants : Germes aérobies mésophile totale, Coliformes Fécaux, Clostridium Sulfite-réducteurs, *Staphylococcus aureus* et Salmonella.

I. 2. 4. 1. Principe :

Le principe consiste en premier lieu à faire isoler la population bactérienne qui se trouve dans les calamars surgelés, puis faire étaler les différentes dilutions préparées à partir de la suspension, sur différents milieux de cultures, pour favoriser la croissance de telle ou telle population qui se trouve dans notre échantillon, et par la suite une caractérisation de l'état microbiologique de notre échantillons.

Les différentes analyses microbiologiques sont effectuées selon des normes ISO et des normes algériennes citées dans la réglementation relative aux Poissons, céphalopodes et mollusques crus. Ces analyses ont été réalisées dans des conditions d'asepsie devant un bec bunsen dans un périmètre de 25 cm. La figure N° 10 résume le protocole expérimental des différents paramètres microbiologiques analysés.

I. 2. 4. 2. Préparation de la solution mère :

- Broyage de l'échantillon avec un pilon et mortier ou un broyeur électrique.
- Mettre 25 g du produit dans 255 ml d'eau peptonée tamponnée, le mélange sera homogénéisé pendant 2 minutes.
- Effectuer à partir de cette solution mère nos différentes dilutions.

I. 2. 4. 3. Préparation des dilutions :

- Préparation de 04 flacons stériles qui contient 9 ml de diluant (eau peptoné tamponné).
- Avec une pipette stérile on prend 1 ml de la solution mère après homogénéisation et le mettre dans le tube N°1 c'est la dilution 10^{-1} .
- 1 ml de tube N°1 est ensuite versé dans le tube N°2 qui contient 9 ml de diluant cette solution est la dilution 10^{-2} .
- Le même mode opératoire est reconduit pour le tube N°3 et N°4.

I. 2. 4. 4. Expression des résultats :

Nous avons retenu pour comptage, les boites de pétri contenant un nombre de colonies compris entre 15 et 300, et le calcul du nombre de micro-organismes à été fait selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{(n1 + 0.1 n2)d}$$

Où :

N : Nombre de germes par gramme de produit.

$\sum C$: Somme totale des colonies comptées.

n1 : Nombre de boite comptés de la première dilution.

n2 : Nombre de boite comptés de la seconde dilution.

d : Facteur de dilution à partir duquel les premiers comptage a été obtenus

I. 2. 4. 5. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale :

Il s'agit de l'ensemble des microorganismes capables de se multiplier en aérobiose à des températures optimales de croissance comprises entre 20 °C et 45 °C. En microbiologie alimentaire, on recherche et dénombre les microorganismes aptes à cultiver en 72 heures à 30 °C et en gélose pour dénombrement. Le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile reste la meilleure méthode permettant d'estimer l'indice de salubrité et de qualité des aliments dans le contrôle industriel. Un aliment dont la flore totale est trop élevée montrera de mauvaises conditions de conservation et sera considéré comme impropre à la consommation (Bonney, 2002).

➤ Objectif

L'analyse microbiologique permet de déterminer :

- La qualité hygiénique qui caractérise le risque pour la santé du consommateur,
- La qualité commerciale qui caractérise l'existence et le risque d'altération
- L'étude spécifique de la flore totale apporte des informations sur la salubrité du produit (Gassama, 2002).

➤ Technique

Ensemencement en profondeur d'un milieu de culture « PCA » coulé dans une boîte de pétri avec 1 ml de la suspension mère ou les dilutions décimales obtenu de la solution mère, l'incubation des boîtes se fait pendant 72 heures à 30°C.

➤ Inoculation et incubation

Introduire dans une boîte de pétri 1 ml de la suspension mère ou des dilutions puis couler le milieu gélose utilisé le PCA fondu au préalable au bain d'eau et maintenue à 45-46°C. Placer les boîtes de pétri retournées, dans l'étuve à 30°C pendant 72 heures.

I. 2. 4. 6. Dénombrement des coliformes fécaux :

Les coliformes fécaux sont des bactéries Gram négatif aérobies facultatives asporulantes, qui ferment le lactose avec production de gaz à une température de 30°C ou 37°C (JO, N°58). Ils vivent généralement dans les intestins de l'homme et des animaux à sang chaud. Leur présence dans l'aliment, confirme des mauvaises conditions

de préparation des denrées et témoigne par conséquent d'une éventuelle contamination d'origine humaine. (Joffin, 1999).

➤ Objectif

La présence des coliformes fécaux est un bon indice de mauvaise condition hygiénique pendant ou après la transformation de l'aliment (Bonnefoy *et al.*, 2002), selon la réglementation algérienne ce critère ne dépassera pas normalement 10ufc/g.

➤ Technique

Ensemencement en profondeur d'un milieu de culture « VRBL » coulé dans une boîte de pétri avec 1 ml de la suspension mère ou des dilutions obtenu de la solution mère. L'incubation se fait pendant 24 à 48 heures à 44°C.

➤ Inoculation et incubation

Introduire dans une boîte de pétri 1 ml de la suspension mère ou des dilutions puis couler le milieu gélose utilisé le VRBL fondu au préalable au bain d'eau et maintenue à 45-46°C, Placer les boîtes de pétri retournées, dans l'étuve à 44°C pendant 24 à 48 heures.

I. 2. 4. 7. Recherche et dénombrement des staphylocoques :

Les staphylocoques sont des coques Gram+, catalase+, aéro-anaérobies, métabolisant le glucose par la voie fermentative. Les staphylocoques comprennent une vingtaine d'espèces. *Staphylococcus aureus* est l'espèce la plus fréquemment impliquée dans des infections d'origine alimentaire (Bonnefoy *et al.*, 2002).

La maladie causée par *staphylococcus aureus* est l'intoxication alimentaire. Les symptômes habituels, qui peuvent survenir dans les 2-4 heures qui suivent la consommation d'aliments contaminés sont les nausées, les vomissements et, parfois, la diarrhée. Les symptômes ne durent généralement pas plus de 24 heures mais, dans les cas graves, la déshydratation peut conduire au choc et au collapsus.

Les produits de la mer comestibles peuvent être contaminés par les staphylocoques, soit par l'intermédiaire de manipulateurs infectés soit par l'environnement. Dans les cas

les plus fréquents, la contamination est due à un individu atteint d'une infection aux mains, d'un rhume ou d'un mal de gorge (Huss, 1996).

➤ Objectif

Ils sont considérés comme des indicateurs de contamination d'origine humaine ou animale. La recherche des *Staphylococcus aureus* permet de savoir si l'aliment présente des risques pour le consommateur, car c'est l'espèce majeure, d'origine humaine, animale ou environnementale et est capable de produire éventuellement une entérotoxine protéique responsable d'intoxication alimentaire (Joffin, 1999).

➤ Technique

L'ensemencement se fait en surface du milieu coulé préalablement dans les boîtes pétries, la gélose Baird-Parker est utilisée pour le dénombrement des *Staphylococcus aureus* dans la plupart des aliments. La sélection est assurée par le tellurite, la caractérisation se fait par la réduction du tellurite en tellure et par la production d'exoenzymes agissant sur les composants du jaune d'œuf.

➤ Inoculation et incubation

L'incubation se fait après étalement de l'inoculum (0.1 ml de la SM ou de la dilution) sur gélose pré coulée et incubation durant de 24 à 36 heures à 35° C ou à 37 °C.

Les *Staphylococcus aureus* donnent des colonies noires (réduction de tellurite en tellure) bombées et entourées d'un halo clair dû à la protéolyse des protéines (lécithines) de jaune d'œuf. Leur taille est de 0.5 à 2 mm, avec aspect brillant. Il est noté que les colonies de *Staphylococcus aureus* non pathogène sont souvent inhibées ou se développent de manière irrégulière. (Guiraud, 2004).

I. 2. 4. 8. Recherche des *Clostridium sulfito-réducteurs* :

Les *Clostridium sulfito-réducteurs* sont des bacilles Gram positif anaérobies stricts capables de sporuler, réduisant les sulfites en sulfure. Hôtes normaux de l'intestin, ils peuvent également être d'origine tellurique. Leurs spores sont recherchées dans l'eau comme indice de contamination fécale ancienne. En bactériologie alimentaire, on

recherche essentiellement les espèces d'origine fécale, en particulier *Clostridium perfringens* qui peut être responsable de toxi-infections alimentaires (Bonnefoy, 2002).

Objectif

Les clostridium sulfito-réducteurs dont *Cl. Perfringens* font partie des critères microbiologiques applicables aux aliments et ils sont donc recherchés par les personnels de l'agroalimentaire et par les services de l'état compétents (Delarras, 2007).

🔧 Technique

- Préparez Cinq tubes et mettre dans chacun 1ml de la solution mère.
- Chauffez les tubes au bain marie réguler à 80°C pendant 10 min.
- Ensuite refroidis sous l'eau courante encore à 10 min. (ce processus assure la destruction des formes végétatives).
- Puis ajoutez de la gélose VF additionné par ses additifs (sulfite de sodium à 5% et l'alun de fer à 5%), jusqu'à ce que le tube soit plein.
- Le tube est vissé et sera effectué par retournement lent d'une façon à éviter d'oxygéner le milieu au cours de cette phase.
- Incubez les tubes à 46°C pendant 24 à 48 heures.

NB : Nous avons aussi dénombré clostridium sulfito-réducteurs dans un autre milieu (IRON) sans préchauffer l'échantillon pour chercher les formes végétatives.

🔧 Dénombrement

Les spores de bactéries anaérobies sulfito réductrices sont noires entourées d'un halo noir. Il est indispensable de procéder à une lecture après 24 heures d'incubation. En présence de nombreuses colonies, une diffusion des halos peut conduire à une coloration noire uniforme du tube et tout dénombrement devient impossible après 48 heures d'incubation. Par contre, s'il y a une faible quantité de colonies à la première lecture et si les colonies sont petites, il peut y avoir développement de nouvelles colonies dans les 24 heures suivantes. Les résultats sont exprimés selon l'absence ou la présence de *Clostridium Sulfito*-réducteurs ou leur spore dans le milieu.

I. 2. 4. 9. Recherche et dénombrement des salmonelles :

Les Salmonelles peuvent, en effet, être présentes en petit nombre et sont souvent accompagnées d'un nombre beaucoup plus grand que d'autres micro-organismes appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* ou à d'autres familles (le journal officiel N°44 juillet 2017). Les salmonelles sont des Gram négatif, petites, en forme de tige, facultatives bactéries anaérobies, habituellement motiles avec flagelles péritriches, et sont catalase positive, oxydase négative, et produire du gaz à partir de glucose.

Les infections à *Salmonella* causées par la consommation de produits de la mer sont les plus fréquentes généralement associées à des aliments crus, insuffisamment cuits et/ou mal cuits poissons à nageoires et crustacés. La contamination croisée des produits de mer par la bactérie *Salmonella* pourrait avoir lieu pendant la transformation et l'entreposage. Toutefois, cette contamination peut être évitée par de bonnes pratiques de fabrication (BPF) et HACCP (Bari et Yamazaki, 2018).

Technique

On a réalisé deux différentes méthodes pour la recherche et dénombrement de salmonelles.

Méthode 01

La recherche de *Salmonella* nécessite quatre (4) phases successives selon le journal officiel N°44 juillet 2017 (on l'a réalisé avec quelque modification).

a) *Pré-enrichissement en milieu non sélectif liquide*

Un pré-enrichissement et un enrichissement sélectif sont souvent nécessaires, afin de pouvoir rechercher les *Salmonella* en nombre restreint ou ayant subi une altération. Ensemencement de la prise d'essai dans de l'eau peptonée tamponnée à la température ambiante, puis incubation à $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant 24h.

b) *Enrichissement en milieux sélectifs liquides*

Ensemencement du bouillon Rappaport-Vassiliadis avec Soja (bouillon RVS) et d'un bouillon Muller-Kauffmann puis Incubation du bouillon RVS à $41,5\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$ et du bouillon MKTTn à $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$.

c) Isolement et identification

Les cultures obtenues sur les milieux d'enrichissement liquide sont ensuite inoculées à 3 milieux sélectifs gélosés :

- La gélose xylose lysine désoxycholate (gélose XLD) ;
- La gélose sulfite bismuth (Wilson blair WB)
- La gélose Hektoen

Ensuite, incubation des milieux gélose à $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ puis examen après $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$.

- Les colonies typiques de *Salmonella* cultivées sur la gélose XLD ont un centre noir et sont entourées d'un halo clair transparent rouge dû à un changement de l'indicateur du milieu
- Dans La gélose au sulfite de bismuth Les agents sélectifs sont le vert brillant et le bismuth. Les *Salmonella* donnent sur ce milieu des colonies brunes ou noires (*Salmonella* H, S+), certaines espèces (*Salmonella* H₂S-) donnent des colonies vertes
- Dans le milieu Hektoen l'agent inhibiteur est représenté par des sels biliaires en concentration plus importante que dans le milieu SS. Les bactéries Gram+ sont inhibées, la croissance des entérobactéries autres que *Salmonella* ou *Shigella* est fortement ralentie. La base nutritive est riche. Les *Salmonella*, qui ne fermentent aucun des trois glucides présents dans ce milieu, donnent des colonies vertes à centre noir (*Salmonella* H₂S+) ou sans centre noir (*Salmonella* H,S-) (Bonney, 2002).

d) Confirmation

Repiquage des colonies présumées de *Salmonella* isolées, et confirmation au moyen des essais biochimiques et sérologiques appropriés.

🔗 **Méthode 02**

Dans cette méthode, la recherche des salmonelles se fait en cinq étapes successives :

a) Pré enrichissement

La solution mère est incubée pendant 20 h pour un pré enrichissement non sélectif de la culture.

b) Enrichissement

Après cette première étape, 0.1 ml de SM sont prélevés et introduits dans deux tubes à essai contenant 10 ml de sélénite cystine simple concentration. Les tubes sont ensuite incubés pendant 24 à 37 °C.

c) Isolement

Les cultures sur sélénite cystine sontensemencées séparément dans des boîtes de pétri stériles dans lesquels on a préalablement coulé le milieu SS qui s'est solidifié. Les boîtes ainsiensemencées sont incubées pendant 24 à 48 heures à 37 °C.

d) Purification

On prélève cinq colonies caractéristiques de chaque boîte de SS et on les repique sur un milieu gélose Nutritive (GN) en vue de la purification. Les boîtes de GN sont incubées à 37 °C pendant 24 heures. A la lecture, les colonies purifiées apparaissent blanchâtres.

e) Identification

L'identification se fait en recherchant les caractères biochimiques. On peut utiliser deux types de galeries : les galeries classiques ou les galeries modernes. C'est la galerie API 20.

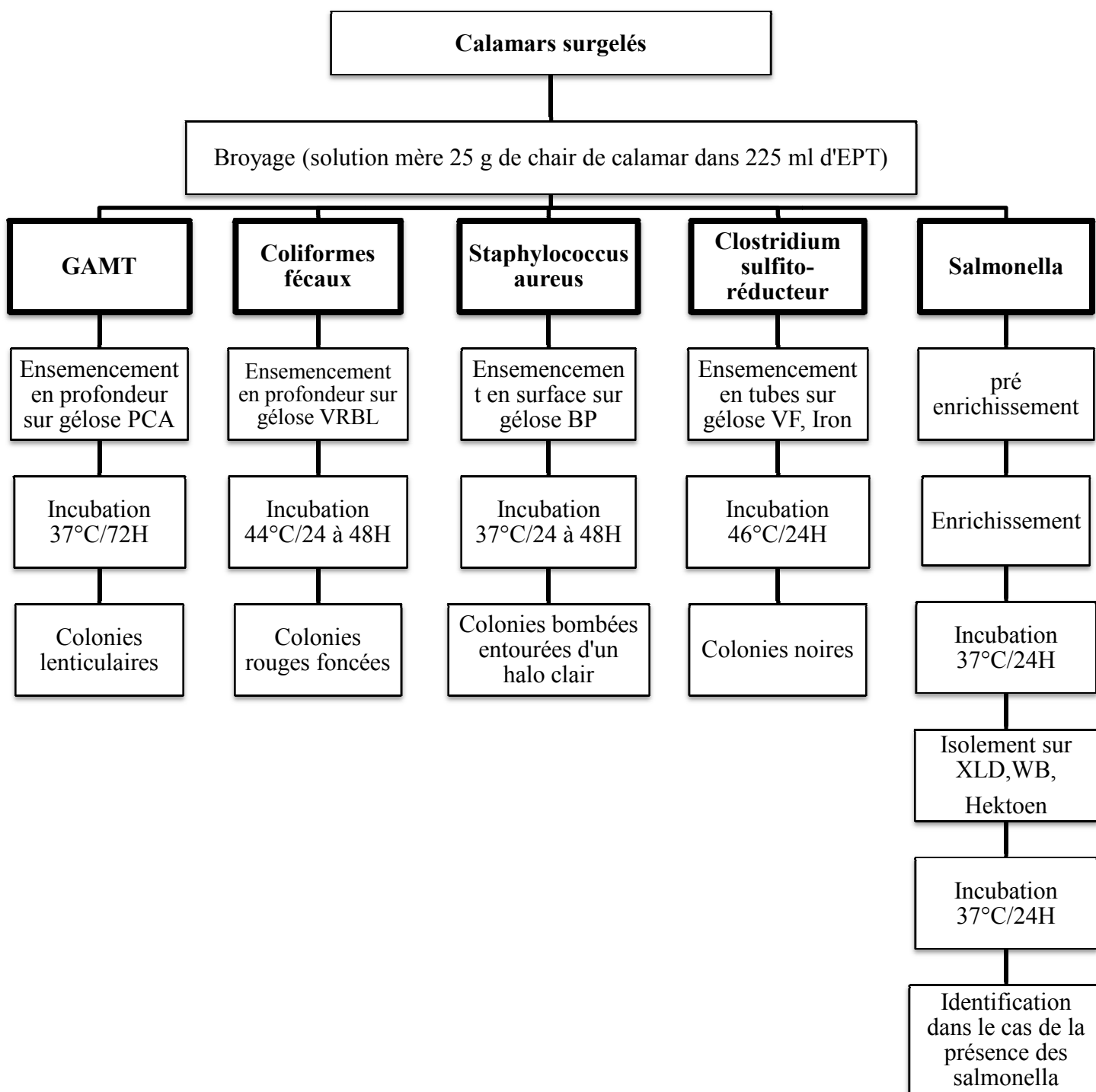


Figure N° 10 : Protocole d'analyses microbiologiques

I. 2.5. Analyse statistique :

L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel statistique informatisé STATISTICA. Toutes les analyses et dosages des échantillons ont été réalisés en triplet. Dans notre étude, nous avons effectué un nombre d'analyse de 03 fois sur un même échantillon pour chaque analyse dans un ordre aléatoire et des moyennes ont été considérées (sous forme de moyenne \pm écart type).

Chapitre 2

Résultats et Discussion

II. Résultats et Discussions :

Dans cette partie, nous allons présenter et interpréter les résultats obtenus des différentes analyses et dosages effectués afin d'évaluer la qualité organoleptique, physicochimique, radiologique et hygiénique des calamars surgelés, commercialisés sur le marché local de la Wilaya de Tiaret.

II.1. Résultats de l'enquête :

Les figures (Fig. A.1 au Fig. A.10) représentent les détails des résultats de l'enquête (Annexe 02). A travers l'analyse des réponses aux questionnaires, nous avons constaté que 72% de la population consomment toujours des poissons et 22% en consomment rarement, dont 6% ne les consomment jamais. Pour les poissons à l'état frais, 80% de la population d'enquête ont l'habitude de les consommer, et 15% les consomment rarement, dont 5% ne les consomment jamais. Comparé au poisson surgelé on a trouvé que 40% ne les consomment jamais, 58% les consomment rarement, et 7% en consomment toujours. Ainsi, 80% parmi eux achèteront de ce produit par rapport au critère de prix, et 8% s'intéressent à sa disponibilité alors que les 6% qui restent s'intéressent à sa qualité. Tandis que 98% de consommateurs considèrent que le poisson surgelé n'a pas la même valeur nutritive que le poisson frais, dont 2% ils considèrent qu'il a la même valeur nutritive que le poisson frais. Quant au poisson d'aquaculture; il y a 100% de la population considèrent qu'il n'a pas la même qualité nutritive que le poisson sauvage.

D'autre part, et pour pouvoir évaluer la qualité organoleptique de calamar surgelé nous avons intégré sur le questionnaire des questions relatives au goût, couleur et odeur de calamar. Les résultats de l'enquête ont montré que 92% de population trouvent que le gout de calamar est bon. Plus de 60% pensent qu'il est blanc et 40% les considèrent jaune clair. Quant à l'odeur de ce produit, 50% le trouvent bon et 50% ne le trouve pas bon.

II. 2. Analyses des paramètres physico-chimiques :

II.2. 1. Mesure de pH :

Le tableau 4 ci-dessous montre les différentes valeurs du pH trouvées dans les échantillons de calamar surgelés. . Le pH est l'un des paramètres physiques les plus utilisés

pour prédire les qualités technologiques et sensorielles des poissons. (El Rammouz et al., 2004). La mesure du pH des produits de la mer est une étape importante car elle permet non seulement d'évaluer la fraîcheur mais aussi d'estimer leur durée de conservation. . Nous avons relevé des valeurs de pH alcalins dans l'échantillon analysé ils sont situés dans l'intervalle de 7,29 à 08,01. D'après (Kilincceker et al., 2009) la valeur du pH devient alcaline pendant le stockage à long terme. La recherche scientifique montre qu'il existe une relation directe entre le pH et la fraîcheur des produits de la mer. Par exemple, le pH des produits surgelés augmente lorsque la date de péremption mentionnée sur l'emballage du produit est dépassée, indiquant qu'ils ont commencé à se détériorer. Cette augmentation du pH a un effet sur la qualité du produit surtout les caractéristiques sensorielles telles que l'odeur, la couleur et la texture sont affectées négativement. Les différentes valeurs obtenues dépassent largement la limite recommandée par Mousumi et al. (2017). Ceci est probablement dû au fait que les niveaux de pH des fruits de mer varient en fonction du terrain environnant. L'eau de mer ou l'eau salée a tendance à être plus alcaline à 8 ou plus, tandis que les poissons d'eau douce prospèrent à des niveaux de pH compris entre 5,5 et 7,5.

Tableau 4 : Différentes valeurs du pH mesurées des calamars surgelés.

	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Moyenne
pH	7,80	7,29	8,01	7,07

II. 2.2. Teneur en eau :

Les différentes valeurs de la teneur en eau d'échantillon de calamar surgelé sont indiquées dans le tableau 4. Nous avons relevé une moyenne de 11,96 dans l'échantillon analysé. Selon Sathivel., (2005), la perte de la teneur en eau est liée à la dénaturation partielle des protéines qui a lieu pendant la congélation, ce qui entraîne une diminution de la rétention d'eau, cela peut être évité en utilisant des matières premières de haute qualité et un bon contrôle des conditions de stockage.

Tableau 5 : Différentes valeurs de la teneur en eau des calamars surgelés.

	Essai 01	Essai 02	Essai 03	Moyenne
H %	11,36	11,76	12,76	11,96

II. 2.3. Teneur en cendres:

La matière sèche d'un échantillon quelconque est constituée d'une première fraction renfermant tous les constituants organiques (hydrates de carbones, lipides, matières azotés et vitamines) et d'une seconde fraction inorganique renfermant les minéraux. Cette dernière fraction représente la quantité de cendres totales (CT) que peut contenir l'échantillon analysé.

Le tableau 6 présente les différentes valeurs de la teneur en cendre d'échantillon de calamar surgelé. En général, tout aliment naturel contient moins de 5 % de cendres, tandis que certains aliments transformés peuvent avoir une teneur en cendres de plus de 10 % (Sathivel, 2005).

Tableau 6 : Différentes valeurs de la teneur en cendre des calamars surgelés.

	Essai 01	Essai 02	Essai 03	Moyenne
CT %	2,39	1,96	2,74	2,98

II. 2.4. Teneur en matière grasse:

Les pourcentages de matière grasse trouvés dans l'échantillon de calamar surgelé importé sont indiqués dans le tableau 7. En générale les poissons sont divisés en 04 groupes : maigres (< 2%) faible en gras (2-4%) moyennement gras (4-8%) et riche en gras (> 8%), ainsi que les poissons en forte teneur en protéines doivent contenir plus de 15% (Stansby, 1976). la matière grasse représente les lipides qui sont insolubles dans l'eau et très solubles dans les solvants organiques. Dans notre étude les résultats indiquent que le

calamar surgelé présente une moyenne de 0.51% avec une valeur maximale de 0.66% et une valeur minimale de 0.37%, Ces résultats sont équivalents à celle des viandes faibles grasses et ne sont pas considérés comme riches en protéines. La quantité de la matière grasse est très variable selon les espèces pour une même espèce selon les individus, la saison de capture, l'environnement, le régime alimentaire, le sexe et l'âge ainsi que l'état frais ou congelé. (Hinard, 1931) et de la présence des additifs interdits ou dépassant la limite recommandée (Karl et al. 2010) la forte teneur des ressources halieutiques en acides gras insaturés leur confère un grand avantage nutritionnel et diététique (diminution du cholestérol sanguin et incidence sur les maladies cardio-vasculaires) (Lampila, 1987 ; Piclet, 1987 ; Simopoulos, 1991).

Tableau 7 : Différentes valeurs de la teneur en matière grasse dans les calamars surgelés.

	Essai 01	Essai 02	Essai 03	Moyenne
MG %	0,37	0,66	0,49	0,51

II.2.5. Dosage d'ABVT :

L'ABVT est l'indicateur biochimique le plus utilisé pour l'évaluation de la durée de conservation des produits à base de poisson (Olafsdottir, *et al.*, 2004). Cependant, les informations disponibles indiquaient que l'ABVT s'était accumulé dans le poisson frais à une phase ultérieure d'altération lorsque la population bactérienne avait augmenté (Nosedá. *et al.*, 2012).

L'augmentation d'ABVT avec l'intervalle de stockage peut être attribuée à la détérioration bactérienne. Cependant, les informations disponibles indiquaient que l'ABVT s'était accumulé dans le poisson frais à une phase ultérieure d'altération lorsque la population bactérienne avait augmenté (Nosedá, *et al.*, 2012). Ainsi, l'ABVT est faible pendant la période de stockage des poissons et seulement lorsque le poisson est proche du niveau de rejet, une quantité croissante d'ABVT a été trouvée. Ainsi, il existe une grande variation dans les valeurs d'ABVT pour différentes causes, la durée de stockage et les méthodes de traitement. Dans notre étude, les résultats du dosage d'ABVT de l'échantillon

de calamar analysé ont montrés une valeur moyenne de 28,45 mg/100g. Une valeur qui est dans la plage de valeur recommandée de 25-30 mg, ABVT /100 g (Mousumi Akter *et al.*, 2017). Les valeurs plus élevées peuvent être expliqués par une dénaturation de la protéine musculaire en condition de stockage.

II.2.6. Dosage des métaux lourds :

Les teneurs en éléments traces métalliques des échantillons de calamar surgelé sont présentés dans le tableau 8. Selon la disponibilité des étalons, nous avons analysé les métaux lourds (Pb, Cd, Cu et Zn) par la SAAF dans trois échantillons des calamars.

Tableau 8 : Teneurs des métaux lourds analysés dans les échantillons de calamars

	Pb	Cd	Cu	Zn
	(mg/Kg)			
Echantillons 1	1,17	0,86	2,23	7,03
Echantillons 2	1,02	1,05	2,17	6,12
Echantillons 3	0,86	0,71	1,07	6,49
Moyenne	1,01	0,87	1,82	6,54
Norme (OMS)	0,2	0,1	3,5	100

Comme il est indiqué dans le tableau ci-dessus le résultat du dosage pour les quatre éléments s'est démontré positif dans les trois échantillons analysés. La moyenne des teneurs trouvée des éléments dans les trois échantillons a été comparée avec celles des normes fixées par l'OMS. Les échantillons analysés sont pollués par le plomb et le cadmium tandis que les teneurs en cuivre et zinc sont inférieures à la norme de l'OMS.

Les métaux lourds sont des micropolluants qui peuvent affecter la salubrité du milieu marin, car ils ne subissent pas de dégradation biologique ou chimique. Ils peuvent de ce fait s'accumuler dans les différents maillons des chaînes trophiques à des concentrations toxiques dans les organismes marins (Neathery *et al.*, 1975). Les facteurs de

bioconcentration (FBC) sont importants pour interpréter le niveau de contamination par éléments traces métalliques. Ils sont calculés par la formule utilisée par Casas (2005) : $FBC = Co/Ce$ où **Co** est la concentration en éléments traces de l'organisme ; **Ce** est la concentration environnementale (eau). Les deux sont exprimées en mg/kg. Dans notre travail, ce facteur n'a pas été calculé à cause de l'indisponibilité de la concentration de l'eau environnementale en métal.

La moyenne trouvée pour le Pb a dépassé celle de la norme OMS (1,01 mg/Kg). L'accumulation du plomb dans les poissons se révèle très dangereuse, car les enfants qui ont besoin beaucoup de protéines animales pour leurs croissances sont en même temps très sensibles à l'intoxication chronique au plomb (saturnisme) telles que l'anémie, la baisse du quotient intellectuel, les anomalies congénitales, des déficits neuro-comportementaux etc. (Bisson *et al.*, 2003).

Le cadmium n'a aucun rôle métabolique connu et ne semble pas biologiquement essentiel ou bénéfique au métabolisme des êtres vivants (Miquel, 2001). Selon Islam, (2010) chez les animaux, le cadmium se concentre dans les organes internes comme les reins et le foie plutôt que dans les muscles ou la graisse. Les taux de Cd augmentent généralement avec l'âge. La norme OMS tolère un taux de 0.1 mg/kg alors que nos résultats sont nettement supérieurs avec une moyenne de 0.87 mg/kg. Ce résultat est légèrement supérieur à celui de Mokrani, (2014) qui a trouvé 0.16 mg/kg dans le merlan. Ces concentrations élevées du Cd constituent un danger potentiel pour le consommateur car l'absorption du cadmium se manifeste de façon aiguë, chez l'homme, par des troubles gastro-intestinaux (nausées, vomissements, diarrhées) (Miquel, 2001).

Le taux du cuivre trouvé est inférieur à la norme 3.5 mg/kg avec une moyenne de 1,82 mg/kg. Ce résultat est similaire à celui de Mokrani, (2014). A très faible dose, Le cuivre est un élément essentiel chez l'homme et l'animal, impliqué dans de nombreuses voies métaboliques, Cependant son excès est le plus souvent préjudiciable à la santé (Picot. 2009).

Concernant le zinc qui est généralement l'élément le plus abondant chez les organismes marins, le taux moyen trouvé est de 6,54 mg/kg. Ces résultats restent très faible par rapport à la norme OMS avec un taux de 100 mg/kg et de celle trouvé par Islam,

(2010) qui a enregistré le taux le plus faible du Zn dans du Saumon avec 22.35 mg/kg. Le Zinc est un des métaux les moins toxiques et les problèmes de carence sont plus fréquents et plus graves que ceux de son excès.

Ces résultats confirment la présence des métaux lourds dans les échantillons de calamars. Il est évident que l'élevage des espèces halieutiques destinées à l'exportation s'effectue dans des zones aquatiques, qui constituent une source de contamination par les métaux lourds d'origines industrielles.

II.2.7. Analyse de la radioactivité des échantillons:

La radioactivité des éléments ^{238}U , ^{228}Ac , ^{232}Th , ^{60}Co , ^{40}K , ^{137}Cs et ^{60}Co dans les échantillons de calamars surgelés a été déterminée dans cette partie d'étude. Les résultats sont présentés dans le tableau N° 09.

Tableau 9 : Concentrations d'activité des radionucléides et leurs énergies dans l'échantillon de calamars.

Radionucléides	Energies(Kev)	Concentration (Bq. Kg-1)	Résultats de (Carvalho <i>et al.</i> , 2011)	Limites du codex Alimentarius Bq/kg
^{238}U	351,9	6,17	2.6	10
^{228}Ac	912	3,13	5	10
^{232}Th	239	9,92	8,19	10
^{60}Co	1173	8,31	7,36	1000
^{40}K	1460,8	22,13	118	10000
^{137}Cs	661,6	5,78	0.14	1000

En raison de leur abondance naturelle dans les milieux marins la présence des radionucléides dans nos échantillons été attendue, cela dit le niveau d'activité dans nos résultats s'avèrent largement inférieure à ceux fixés par le codex Alimentarius sauf pour le thorium qui est au niveau de la norme avec une activité de 9.92 Bq/kg.

Le changement des concentrations des radionucléides est dû à la modification qui peut intervenir lors du processus technologique de transformation comme la réfrigération, la congélation, le fumage, et le traitement thermique, il n'y aura probablement qu'un faible changement de concentration pour les espèces d'eau de mer et pour celle d'eau douce les procédés technologiques habituellement utilisés pour les poissons et crustacés d'eau douce ne provoquent aucune modification de la concentration (Leistner, 1965).

II.3. Analyse des paramètres microbiologiques :

Il est préjudicieux de faire la distinction entre les deux dénominations, la flore d'altération et les bactéries d'altération ; la première décrit simplement les bactéries présentes sur le poisson quand il s'altère tandis que la seconde constitue le groupe spécifique qui produit des odeurs et des goûts désagréables associés, chaque poisson possède ses propres bactéries d'altération dont le nombre détermine sa durée de conservation (Benchehra, 2012). Les différents résultats de l'analyse des dénombrements des germes aérobies mésophile totale (GAMT), coliformes fécaux (CF), les *Staphylococcus aureus* (SA), *Clostridium sulfito-réducteur* et *Salmonelle* sont montrés dans les tableaux (10 au 15) et les figures (11 au 16).

Pour pouvoir qualifier nos échantillons après analyse selon le journal officiel de la République Algérienne (JOA) N°35 de 27 mai 1998 on a procédé au :

✦ Plan à trois classes :

Ce plan est désigné parce que les résultats des examens interprétés sur cette base permettent de fixer trois classes de contamination, à savoir :

Celle inférieure ou égale au critère « m » ;

Celle comprise entre le critère « m » et le seuil « M »

Celle supérieure au seuil « M ».

Où :

m : seuil au-dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisante.

Tous les résultats égaux ou inférieurs à ce critère sont considérés comme satisfaisants ;

M : seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants, sans pour autant que le produit soit considéré comme toxique ;

M= 10 m lors du dénombrement effectué en milieu solide ;

$M=30$ m lors du dénombrement effectué en milieu liquide

n : nombre d'unités composant l'échantillon ;

c : nombre d'unités de l'échantillon donnant des valeurs situées entre « m » et « M ».

✚ Plan à deux classes :

Ce type de plan n'accepte aucune tolérance et correspond le plus souvent aux conclusions :

Absence (le résultat est bon et le produit jugé satisfaisant)

Présence (le résultat est mauvais et le produit est déclaré impropre à la consommation). Ce plan est applicable aux contaminations par les Salmonella.

II.3.1. Dénombrement de la flore mésophile aérobique totale :

Les résultats du dénombrement de la flore mésophile aérobique totale dans le calamar surgelé importé sont présentés dans le tableau 10. Les GAMT dans un produit alimentaire peuvent donner une idée comparative de la contamination microbienne et des pratiques d'hygiène appliquées pendant la manutention et la transformation du poisson (Huss., 1988). Une flore mésophile dénombrée en grande quantité indique un début du processus d'altération. Dans notre échantillon de calamar surgelé nous avons pu dénombrer 22.27×10^{-2} UFC/g (Figure 12.) Ceci est largement en dessous de la valeur critique de 5. 104 UFC/g selon les normes algériennes en vigueur et aussi selon les normes internationales ISO 4833 et les normes ICMSF (1986) qui est fixés à 10^6 UFC / g pour la flore de GAMT et pour les entérobactéries.

Tableau 10 : Niveau de contamination du produit par les GMAT et la qualité microbiologique du calamar surgelé selon les normes algériennes.

Produit	Moyenne	Niveaux de contamination	Qualité
Calamars surgelés	22.27×10^{-2} ufc/g	Absence	Bonne qualité
		$m < 10^6$	QMS
		$10^6 < m < 10^7$	QMA
		$m > 10^7$	QMNS

QMS : qualité microbiologique satisfaisante ; QMA : qualité microbiologique acceptable
QMNS : qualité microbiologique non satisfaisante

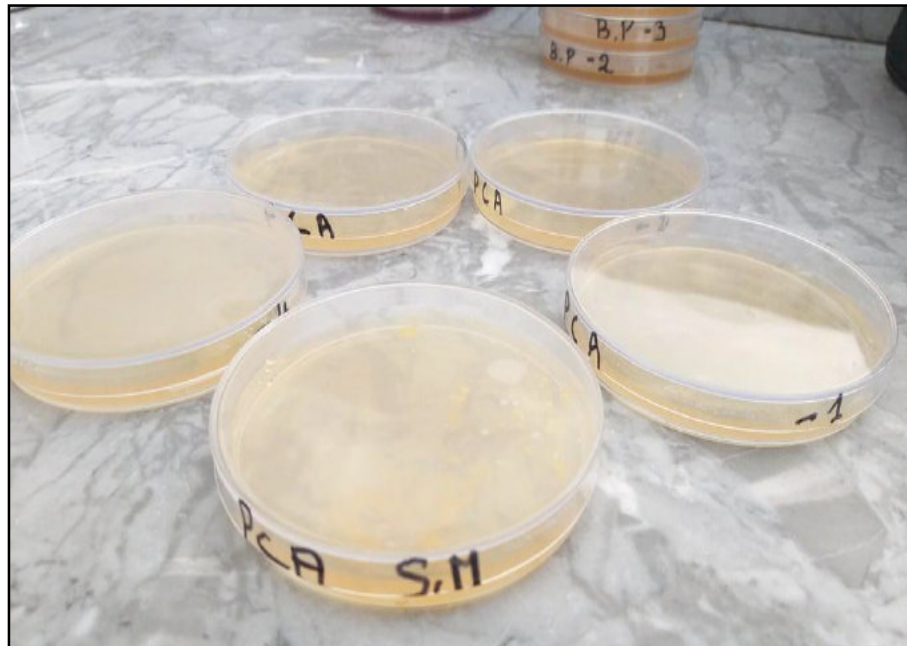


Figure N° 11 : Dilutions des échantillons de calamars surgelés



Figure N° 12 : Résultats de dénombrement des GAMT dans les solutions mères

II.3.2. Dénombrement des coliformes fécaux :

Les résultats du dénombrement de coliformes fécaux dans le calamar surgelé demeurent négatifs 0 UFC/g (Figure 13). Ce groupe de germe renseigne surtout sur les conditions d'hygiène du personnel de production, car ce sont des germes témoins de la contamination fécale qui peut se faire soit par les mains sales, produits souillés ou par l'environnement des ateliers. Les taux de coliformes ont été largement utilisés comme indicateurs universels de l'hygiène. Leur absence signifie donc une bonne pratique d'hygiène lors du processus de transformation, donc ils sont des indicateurs des conditions d'hygiène lors de la manipulation des produits halieutiques.

Tableau 11 : Niveau de contamination du produit par les coliformes fécaux et la qualité du calamar surgelé selon les normes algériennes.

Produit	Moyenne	Niveaux de contamination		Qualité
		Absence	Bonne qualité	
Calamars surgelés	0 ufc/g	m < 10		QMS
		10 < m < 10 ²		QMA
		m > 10 ²		QMNS

QMS : qualité microbiologique satisfaisante ; QMA : qualité microbiologique acceptable
QMNS : qualité microbiologique non satisfaisante

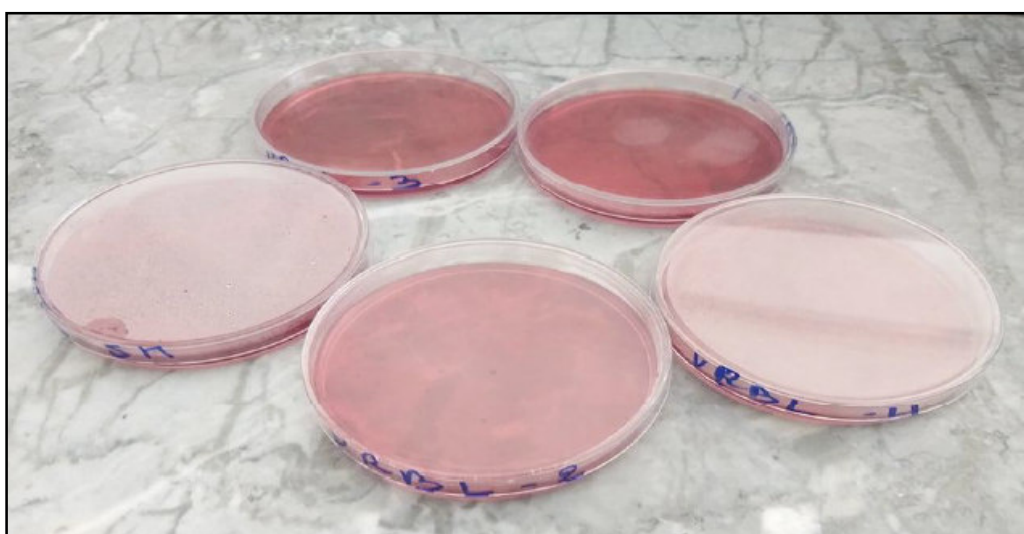


Figure N° 13 : Résultats de dénombrement des coliformes fécaux dans les calamars surgelés

II.3.3. Recherche et dénombrement des staphylocoques :

La contamination par les *Staphylococcus aureus* est postérieure à la pêche. Ces germes sont véhiculés par le biais des marins pêcheurs et du personnel chargé de la réception et du conditionnement du produit ainsi que les matériaux, ustensiles et les caisses d'entreposage (Bourdin., 2010).

Les résultats ont montré la présence de *Staphylococcus aureus* avec une estimation moyenne de (72 UFC/g) dans l'échantillon de calamar analysé (Figure 14). Le nombre obtenu est inférieur aux normes algériennes en vigueur (10^2 UFC /g) ce qui est un indice la qualité microbiologique satisfaisante ; La présence de ces germes avec des taux supérieurs est témoin du manque d'hygiène lors des manipulations et de stockage. La présence d'un nombre qui dépasse les normes peut expliquer par la pêche dans des eaux polluée, le non-respect des mesures élémentaires d'hygiène ainsi que le non application des bonnes pratiques de préparation. Le tableau 12 montre le niveau de la qualité microbiologique de l'échantillon de calamar en termes de *Staphylococcus aureus* selon les normes algériennes.

Tableau 12 : Niveau de contamination du produit par *staphylococcus aureus* et la qualité microbiologique du calamar surgelé selon les normes algériennes.

Produit	Moyenne	Niveaux de contamination	Qualité
Calamars surgelés	72 ufc/g	Absence	Bonne qualité
		$m < 10^2$	QMS
		/	/
		$m > 100$	QMNS

QMS : qualité microbiologique satisfaisante ; QMNS : qualité microbiologique non satisfaisante

II.3.4. Recherche des *Clostridiuimsulfito-réducteurs* :

Les résultats de dénombrement a révélé l'absence des germes anaérobies sulfito-réducteurs (0 spores / g de calamar) (Figure 14) dans l'échantillon de calamar analysé témoignant que l'échantillon est de qualité microbiologique satisfaisante, ce qui signifie que le produit n'a pas été contaminé.

Le groupe des microorganismes anaérobies sulfito-réducteur qui se retrouvent fréquemment dans la nature en particulier dans le sol, sont témoins d'une pollution ancienne et constituent aussi un bon indicateur de l'efficacité de la désinfection. Elles sont résistantes à certains désinfectants (Georges et Ezin., 2002). Le tableau 13 montre le niveau de la qualité microbiologique de notre échantillon en termes de Clostridium sulfito-réducteurs selon les normes algériennes.

Tableau 13 : Niveau de contamination du produit par *Clostridiuimsulfito-réducteurs* et la qualité du Calamars surgelés selon les normes algériennes.

Produit	Moyenne	Niveaux de contamination	Qualité
Calamars surgelés	0 ufc/g	Absence	Bonne qualité
		$m < 10^2$	QMS
		/	/
		$m > 100$	QMNS

QMS : qualité microbiologique satisfaisante ; *QMNS* : qualité microbiologique non satisfaisante

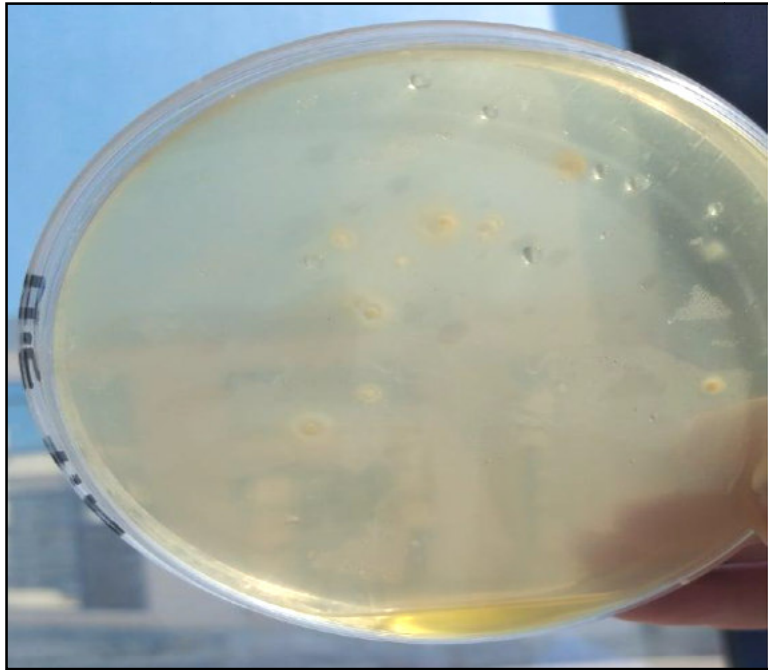


Figure N° 14 : Résultats de la recherche des *staphylococcus aureus* dans les calamars surgelés



Figure N° 15 : Résultats de la recherche des *Clostridium sulfito-réducteurs* dans les calamars surgelés

II.3.5. Recherche et dénombrement de *salmonella* :

Les analyses effectuées n'ont montré aucune présence de salmonelle dans tous les milieux utilisés (figure 16). Les salmonelles sont des germes communs à toutes les espèces animales et qui se retrouvent au niveau de l'environnement pollué. Ces bactéries résistent au froid (et donc au réfrigérateur et au congélateur) mais sont inhibées par la chaleur. Ainsi les aliments crus ou peu cuits sont les plus fréquemment contaminés tels que les poissons surgelés, ce qui montre la présence majoritaire des *Salmonella* dans plusieurs poissons. L'ingestion de salmonelles n'entraîne cependant pas forcément une salmonellose, cela dépend du type de bactérie et de la dose consommée. (Guiraud et Rosec., 2004).

L'absence de colonie de salmonella indique une bonne qualité hygiénique du produit analysé.

Tableau N° 14 : Niveau de contamination du produit par *salmonella* et la qualité du calamar surgelé selon les normes algériennes.

Produit	Moyenne	Niveaux de contamination	Qualité
Calamar surgelé	0 ufc/g	Absence	Bonne qualité
		/	/
		/	/
		Présence	QMNS

QMNS : qualité microbiologique non satisfaisante

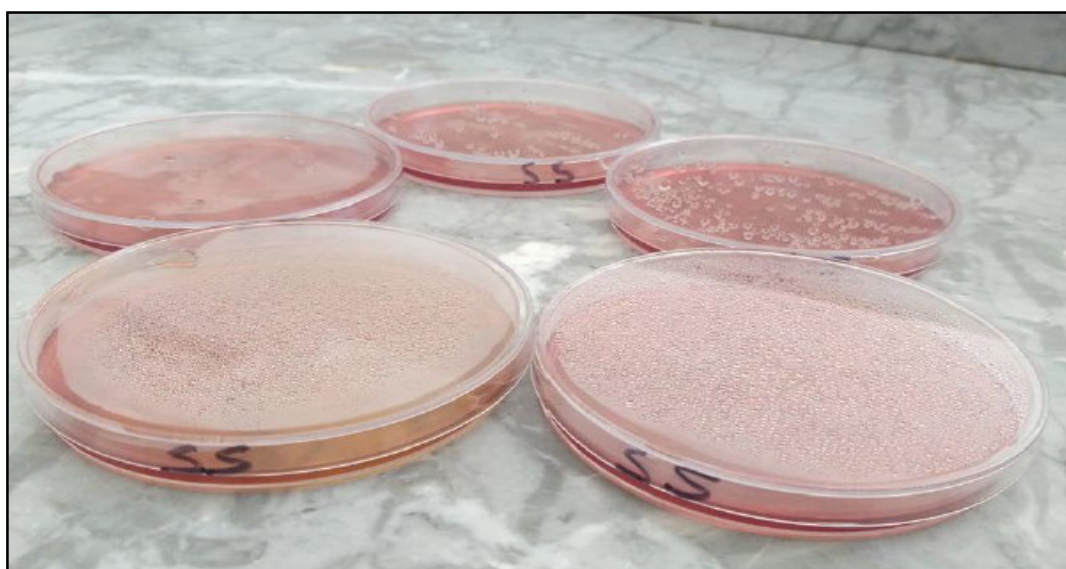


Figure N°16 : Résultats de la recherche de *salmonella* dans le calamar surgelé.

II.3.6. Récapitulation des résultats d'analyses microbiologiques:

Le résumé des résultats d'analyses microbiologiques de nos échantillons de calamars surgelés est montré dans le tableau 15.

La lecture de ces résultats montre la présence de quelques colonies des GAMT et les *Staphylococcus aureus*, mais l'absence totale de Coliforme fécaux, Clostridium sulfito-réducteurs et les Salmonelles. Ce qui indique la bonne qualité microbiologique du produit analysé.

Tableau 15 : Résumé de résultats d'analyses microbiologiques des échantillons de calamars surgelés comparés avec les normes Algériennes.

	Nos résultats	Les normes Algériennes *
<i>GAMT</i>	22,72 × 10 ² UFC/g	10 ⁶ UFC/g
<i>Coliformes fécaux</i>	Absence	10 UFC/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	72 UFC/g	10 ² UFC/g
Anaérobies sulfito-réducteur	Absence	10 ² UFC/g
<i>Salmonella</i>	Absence	Absence dans les 25 g

* : Arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires.

La contamination des produits halieutiques est due aux bactéries dites endogènes et exogènes (Bourdin., 2010). Les bactéries endogènes sont présentes naturellement dans l'écosystème aquatique, alors que les bactéries exogènes sont d'origine fécale et telluriques (Little et Edwards, 2005). Ou bien par contamination durant les opérations de débarquement, manipulation et transformation. Ainsi que lors de la rupture dans la chaîne de froid durant leur conservation (Huss., 1999).

Ce qui expliquer l'influence des paramètres environnementaux en termes de polluants durant la culture des poissons sur sa qualité microbiologique. Ainsi, le respect des conditions de bonne pratique d'hygiène et la chaîne de froid au cours du processus de transformation, peuvent avoir un impact majeur sur la qualité de ces produits hautement périssables.

Conclusion

Conclusion

Les fruits de mer font partie des aliments consommés par le consommateur algérien, y compris le calamar qui est considéré comme un céphalopode marin très abondant dans les débarquements halieutiques des côtes algériennes. Il est par conséquent évident que le calamar est une espèce qui représente une importance économique et nutritive.

Dans ce travail, nous avons étudié la qualité physicochimique, microbiologique, hygiénique et radiologique des calamars importées de la Chine à l'état surgelé et commercialisé sur le marché local. Nos analyses physicochimiques montrent des teneurs en lipides équivalentes à celle de la catégorie des poissons maigres. Malgré que la surgélation est l'un des meilleures méthodes de conservation contre le développement des micro-organismes mais cette méthode de conservation peut diminuer la qualité nutritive des calamars incluent des modifications du pH, la teneur en eau et aussi le dosage d'ABVT. Comme on a pu trouver à travers les différents dosages effectués, la présence de tous les métaux lourds étudiés (Pb, Zn, Cu et Cd) dans les échantillons de calamar surgelé avec des moyennes différent. La moyenne des teneurs trouvée des éléments dans les trois échantillons a été comparée avec celles des normes fixées par l'OMS. Les échantillons analysés sont pollués par le plomb et le cadmium tandis que les teneurs en cuivre et zinc sont inférieures à la norme de l'OMS.

Quant aux résultats de la radioactivité, il a été constaté une présence de tous les radionucléides étudiés avec des taux inférieurs à la norme sauf pour le thorium (^{232}Th) qui est presque identique à la norme avec une activité de 9,92 Bq/kg. Ce qui révèle le risque qui peut présenter la consommation de ces produits halieutiques importés si on ne sera pas vigilant.

D'autre part la lecture des résultats des analyses microbiologiques montre la présence de quelques colonies des GAMT et les *Staphylococcus aureus*, mais l'absence totale de Coliforme fécaux, *Clostridium sulfito-réducteurs* et les *Salmonelles*. Ce qui indique la bonne qualité microbiologique du produit analysé.

Toutefois, la contamination constitue un facteur de risque non seulement pour la vie de ces espèces aquatiques, mais aussi pour les consommateurs. Il se pose alors un véritable problème de santé publique associé à la consommation de ce genre d'aliments importés. C'est d'après ce constat que nous conseillons les consommateurs

de limiter leur consommation de ces produits à une fois par semaine pour rester en dessous des doses hebdomadaires tolérables par notre corps.

Ce travail mérite d'être poursuivi afin d'ouvrir les portes sur cet axe de recherche. Pour une amélioration plus efficace de la santé. Pour cela, Nous avons noté les recommandations et perspectives suivantes :

- ✦ De prolonger la période d'étude pour mieux suivre l'évolution de la qualité des produits de la pêche importés destinés à la consommation publique.
- ✦ Exploiter d'autres espèces marines existantes dans notre pays, pour limiter l'importation de ces produits.
- ✦ Enfin, pour assurer une sécurité des produits de la pêche. Des règles d'importation doivent être suivies en ce qui concerne l'hygiène pendant la manutention et le traitement, pour éviter toute perte économique à cause de l'altération de ces produits, et même de prévenir la santé publique.

***Références
Bibliographiques***

Références bibliographiques

1. Abojassim, Hady Mohammed (2016). Natural radioactivity levels in some vegetables and fruits commonly used in Najaf Governorate, Iraq, Food Science, Volume :3, Page:113-123.
2. Adrien Bernard –technoscience (2004). France, 305pp.
3. Anses-Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail. (2013). Agriculture et mer, France, 188p.
4. AOAC. 1990. Official methods of analysis, Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., USA. 15th Edition, pp. 807-928.
5. AOAC. Official Methods of Analysis. (1995). Fatty Acid in Seafood, Official Method 937.26, Arlington, VA, p14.
6. AOAC. Official Methods of Analysis. (2012). 15th ed.; Association of Official Analytical Chemists : Arlington, VA, p 70.
7. Bari, M. L. and K. Yamazaki (2018). Seafood Safety and Quality, CRC Press.
8. Benchegra, K. (2012). Dynamique dans la formation de l'amine biogène, histamine, des hydroperoxydes, des TBA-rs et le suivi de la qualité microbiologique chez la sardine (Sardines) (Mémoire de Magister). Université d'Oran, Oran.
9. Bisson, M., R. Diderich, N. Houeix, C. Hulot, G. Lacroix, J.P. Lefèvre, S. Leveque, H. Magaud, A. Morin, G. Pepin et A. Pichard, (2011). Cadmium et ses dérivés, Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques 82p. [En ligne] URL : <http://www.ineris.fr/hml>, consulté le 10/04/2022.
10. Bonnefoy, C. (2002). Microbiologie et qualité dans les industries agro-alimentaires, Wolters Kluwer France.
11. Bourdin G., (2010). La contamination microbienne des produits de la pêche et plus spécifiquement celle par *Listeria monocytogenes*. Hygiène des produits de la pêche et de l'aquaculture.
12. Bousbia, H., A. Biad and S. Laggoune (2018). Analyse sensorielle, microbiologique et physicochimique de l'eau de consommation provenant du citernage de la région de Tassoust-Jijel, Université de Jijel.

13. Boutiba, Z. (1996). La pollution : menace sur le peuplement marin en méditerranée. 3^{ème} colloque national climat-environnement « L'environnement côtier (ARCE), 16-17 décembre 1996, Oran : 15p.
14. Carvalho, F. P., Oliveira, J. M., & Malta, M. (2011). Radionuclides in deep-sea fish and other organisms from the North Atlantic Ocean. *ICES Journal of Marine Science*, 68(2), 333-340.
15. Casas, S., (2005). Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule, *Mytilus galloprovincialis* en milieu méditerranéen, thèse de Doctorat, Université du Sud Toulon Var, France, p 301.
16. Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, (2017) méthodes d'analyses. Edition 2014/03/17.
17. Chahid, A. Tahiri, A. Benoujji, N. El kahoui, N. Bouzid, T. (2009). Validation interne de la méthode de dosage du plomb dans les produits de la pêche par spectrophotométrie d'absorption atomique en four a graphite (ASS-FG). *Les technologies de laboratoire*. Septembre -, N°16, 15-22.
18. Challier, L., 2005 –Variabilité de la croissance des céphalopodes juvéniles et relation avec les fluctuations du recrutement, en Manche. Thèse de doctorat. Université de Caen Basse-Normandie, 188pp.
19. Conte Júnior, C. A., Fernández M., and Mano S. B., (2008). Use of carbon dioxide to control the microbial spoilage of bullfrog (*Rana catesbeiana*) meat Pp. 356–361.
20. Delarras, C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire*. Edition : technique et documentation, Lavoisier, pages : 150-207.
21. El Rammouz R et al. (2004) « Effect of ultimate PH on the physicochemical and biochimical characterstics of turkey breast muscle showing normal rate of postmortem ph fall 7 October 2004, DIO 10.1063/ps/83.10.1750.source :PubMed.
22. Etienne, M. (1998). "L'ABVT." Fiche technique ifremer, Département valorisation des produits, mai, bibliomer (4) : 1998-0348.
23. FAO, (2008) – La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture. Département des pêches et de l'aquaculture.
24. FAO, (2011) -L'état de la sécurité alimentaire dans le monde (2011). Rome. 62 pages.
25. FAO, (2014) – La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture (SOFIA) Département des pêches et de l'aquaculture.

26. FAO, (2020). La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture.
27. FAO. (2018).Rapport sur la situation mondiale des pêches et de l'aquaculture appelle à redoubler d'effort pour freiner la surpêche Rome, 74P.
28. FAO. (2018).Rapport sur la situation mondiale des pêches et de l'aquaculture appelle à redoubler d'effort pour freiner la surpêche Rome, 74P.
29. Gassama, D. (2002). "Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale dans les filets de sole. Etude comparative des méthodes d'analyse et des résultats des deux laboratoires." Mémoire d'étude approfondit en production animale, Dakar, 46p.
30. Georges T. et Ezin J.P, (2002). L'eau, patrimoine mondial commun, Belgique, presses universitaire de Namur. 303 p.
31. Greaser, M.L. and A.M. Pearson (1999). Flesh foods and their analogues. In : Food texture measurement and perception. A. J. Rosenthal. Aspen Publication, Gaithersburg : 236-246. 40.
32. Guiraud, J.-P. et Rosec, J.-P. (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Saint Denis - France : Afnor.
33. Hinard, G. (1931). Valeur alimentaire du poisson de mer, des crustacés et mollusques marins comestibles. Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes, 4(4), 425-431.
34. <https://images.app.goo.gl/L2nRkW2beFBVpfar8> Consulté le 21/03/ 2022.
35. Huillery, A.L, (2001) -Analyse de la filière des poissons chats élevés dans le delta du Mékong (Vietnam).Association pour le développement de l'Aquaculture (ADA), Bore.
36. Huss H. H., (1999). La qualité et son évolution dans le poisson frais.FAO document technique sur les pêches 348. Rome. 348 p.
37. Huss, H. H. (1988). Le Poisson frais : qualité et altérations de la qualité, manuel de formation préparé pour le Programme de perfectionnement FAO/DANIDA sur la technologie du poisson et le contrôle de qualité (No. 29). Food & Agriculture Organization.
38. Huss, H. H. (1996). Assurance de qualité des produits de la mer, FAO.
39. Islam, M. M., Bang, S., Kim, K. W., Ahmed, M. K., & Jannat, M. (2010). Heavy metals in frozen and canned marine fish of Korea. Journal of Scientific Research, 2(3), 549-549.
40. Joffin, C, Joffin, J.N. (1999).Microbiologie alimentaire. Edition : CRDP. Bordeaux. 5ème édition collection Biologie Technique : 211-212.

41. Kilinceker, O., Dogan, I. S., & Kucukoner, E (2009). Effect of edible coatings on the quality of frozen fish fillets. *LWT-Food science and Technology*, 42(4), 868-873.
42. Lampila, L.E., (1987). Seafood lipids : analysis and health benefits. In : Kramer D.E. & Liston, J. (eds), *Seafood Quality Determination*, pp. 497-515, Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
43. Leistner, L. (1965). Recherches sur la contamination radioactive des aliments d'origine animale.
44. Little D.C., Edwards P. (2005). Systèmes agricoles intégrés bétail-poisson. FAO, Rome. 97-99 p.
45. Miquel, M. G., (2001). Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé, Rapport 261, Office Parlementaire d'Evaluation des Choix Scientifiques et Technologiques, 365p.
46. Mokrani M. (2014). Détermination du niveau de contamination par les métaux lourds dans les poissons d'importation. Mémoire de master, Université de Tlemcen.
47. Mousumi, A et al. (2017). Quality changes of pangas catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) fillet during ice storage, *journal of food resource science*, vol.6, issue: 1, page.No:1-9.
48. Neathery, M., et Miller, WJ. (1975). Metabolism and toxicity of cadmium, mercury and lead in animals. *Journal of Dairy Science*, 58, 1767-178.
49. Nosedá, B et al. (2012). Microbiological spoilage of vacuum and modified atmosphere packaged Vietnamese pangasius hypophthalmus fillet *Food Microbiol*, 30:408-419).
50. Olafsdottir, G et al. (2004). Multisensor for Fish quality determination. *Trends FoodSci.Technol.*15 :86-93.
51. OMS IPCS., (1998). Environmental Health Criteria n°200: copper. World Health Organisation International Programme on chemical Safet.
52. Piclet, G., (1987). Le poisson aliment : composition - interet nutritionnel. *Cah. Nutr. Diet* 22 (4), 317-336.
53. Picot A. (2009). Le cuivre des bénéfices aux risques. Dossier d'information N°03 ATC.CNRS. Paris.
54. Pierce, G. J., & Guerra, A., 1994 –Stock assessment methods used for cephalopod fisheries. *Fisheries Research*, 21:465-469p.

55. Pradyt, Patnaik (2004). *Dean's Analytical Chemistry Handbook* (McGraw-Hill Handbooks). Second edition. 1114 p. ISBN: 0071410600 .
56. Rosset, Ph.et al. (2002). La chaine du froid en agroalimentaire. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, Elsevier Masson, 37 (2), pp.124-130.hal-003783884
57. Roua, H. (1988).Faculté de médecine et pharmacie de Dakar « contribution à l'étude de la bactériologique des viandes bovines congelée importées au Sénégal ».
58. Sathivel, S. (2005). Chitosan and protein coatings affect yield, moisture loss, and lipid oxidation of pink salmon (*Oncorhynchus gorboscha*) fillets during frozen storage. *Journal of food science*, 70(8), e455-e459.
59. Simopoulos, A.P., (1991). Omega 3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am. J. Clin. Nutr.*, 54 (3), 438-463.
60. Stansby, M. E. (1976). Chemical characteristics of fish caught in the northeast Pacific Ocean. *Marine Fisheries Review*, 38(9), 1-11.
61. Sykes, A. V., Domingues, P. M., & Andrade, J.P., 2014 – *Cephalopod culture*, 492pp.
62. UNSCEAR, (2000). Sources and effects of Ionizing Radiation: Exposures from natural radiation sources. Report to the general Assembly, Annex B, United Nations, New York, USA.
63. Walsh, A. (1955). The application of atomic absorption spectra to chemical analysis. *Spectro. chim. Acta*, 7, pp. 108-117.
64. Wang Y.W., Liang L.N., Shi J.B., Jiang G.B. (2005). Chemometrics methods for the investigation of methyl mercury and total mercury contamination in mollusks samples collected from coastal sites along the Chinese Bohai sea. *Environ pollul* 135: 457-67.

Annexes

Annexe : 01

Enquête sur la consommation des calamars surgelés dans la Wilaya de Tiaret
(Guide d'entretien)

Date :

Age :

Sexe :

1. Consommez-vous les poissons ?

Toujours **Rarement** **Pas du tous**

2. Le plus souvent vous consommez du poisson ?

Frais : **Toujours** **Rarement** **Pas du tous**

Surgelé : **Toujours** **Rarement** **Pas du tous**

3. Quels sont les critères pour choisir vos poissons surgelés ?

Prix **Qualité** **Disponibilité**

4. Le poisson surgelé a-t-il la même valeur nutritive que le poisson frais ?

Oui **Non**

5. Le poisson d'aquaculture a-t-il la même qualité nutritive que le poisson sauvage ?

Oui **Non**

6. Consommez-vous le calamar surgelé ?

Toujours **Rarement** **Pas du tous**

7. Connaissez-vous l'origine du Calamar surgelé que vous achetez ?

Pays d'origine : **Oui** **Non**

Aquaculture/sauvage : **Oui** **Non**

8. Comment qualifiez-vous le gout de ce Calamar ?

Bon **Sans goût** **Pas bon**

9. Comment qualifiez-vous la couleur de ce Calamar ?

Blanc **Jaune clair**

10. Comment qualifiez-vous l'odeur de ce calamar ?

Bonne **Sans odeur** **Pas bonne**

Annexe : 2

Résultats de l'enquête

Consommez-vous du poisson :

La consommation du poisson

Toujours Rarement Pas du tout

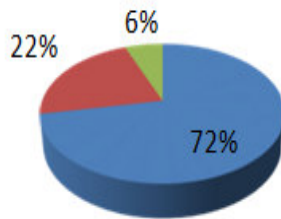


Figure A.1 : Taux de consommation du poisson

Le plus souvent vous consommez du poisson frais ou surgelé :

Les poissons surgelés

Toujours Rarement Pas du tout

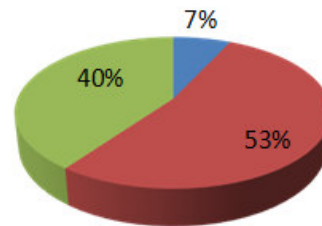


Figure A.2 : Consommation du poisson frais/surgelé

Quels sont les critères pour choisir vos poissons surgelés :

Les critères pour choisir les poissons Surgelés

Prix Disponibilité Qualité

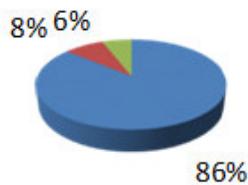


Figure A.3 : Critères de choix pour l'achat des poissons surgelés

Le poisson surgelé a-t-il la même valeur nutritive que le poisson frais

Le poisson surgelé a-t-il la même Valeur nutritive que le poisson frais

Oui Non

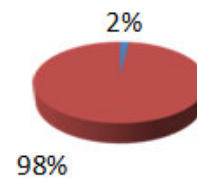


Figure A.4 : Valeur nutritive du poisson frais /surgelé

Le poisson d'aquaculture a-t-il la même qualité nutritive que le poisson sauvage :

Le poisson d'aquaculture a-t-il la Même qualité nutritive que le Poisson sauvage

oui Non



Figure A.5 : Qualité nutritive du poisson d'aquaculture /sauvage

Consommez-vous le calamar surgelé :

La consommation du calamar Surgelé

Toujours Rarement Pas du tout

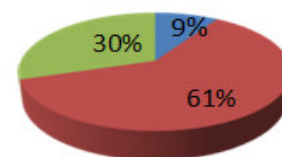


Figure A.6 : Taux de consommation du calamar surgelé

Connaissez-vous l'origine du calamar surgelé que vous achetez :

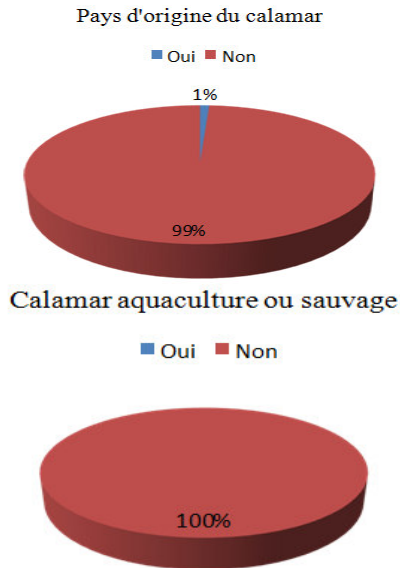


Figure A.7 : Taux de la connaissance l'origine du calamar surgelé

Comment qualifiez-vous le gout de ce calamar :

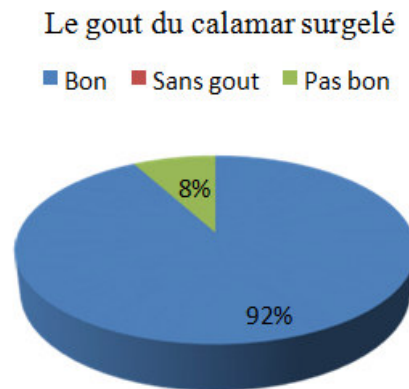


Figure A.8 : Appréciation du gout du calamar surgelé

Comment qualifiez-vous la couleur de ce calamar :

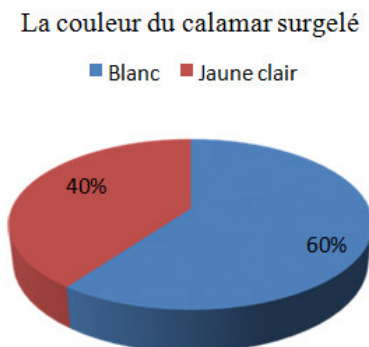


Figure A.9 : Couleur du calamar surgelé

Comment qualifiez-vous l'odeur de ce calamar

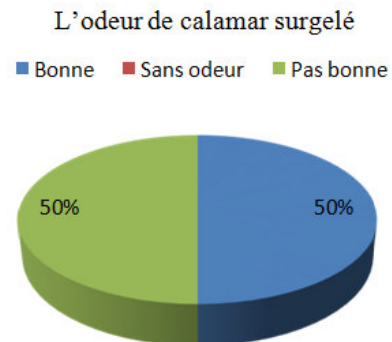


Figure A.10 : Odeur de calamar surgelé

Annexe 3

Composition et préparation des milieux de culture**1. Eau peptonée tamponnée :**

Peptone de caséine	10 g
Chlorure de sodium	5 g
Phosphate de sodium, dibasique 12 H ₂ O	9 g
Phosphate de potassium, dibasique	1.5 g
Eau distillé	1000 ml
pH final à 25 °C : $7 \pm 0,2$	

1.1. Préparation :

- Dissoudre les ingrédients dans l'eau en chauffant, si nécessaire.
- Ajuster le pH de façon qu'après stérilisation il soit de 7 à 25°C.
- Repartir en tubes à essais ou flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C $\pm 1^\circ\text{C}$ pendant 20 min.

2. Milieu PCA (plate count agar):**2.1. Formule théorique :**

Tryptone	5 g
Extrait de levure déshydraté	2.5 g
D-glucose anhydre	1 g
Agar-agar	12 à 18 g
Eau distillée	1000 ml
pH final (25°C) $7,0 \pm 0,2$	

2.2. Préparation :

- Mettre 23,5g de poudre ans un litre d'eau distillée.
- Attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène.
- Chauffer lentement en agitant fréquemment puis porter à l'ébullition jusqu'à dissolution complète.

- Ajuster le pH, si nécessaire, de sorte qu'après stérilisation, il soit de $7.0 \pm 0,2$ à 25°C .
- Stériliser à 121°C pendant 20 minutes.

3. Milieu de VRBL/VRBG:

3-1-Formule théorique :

Extrait de levure	3 g
Peptone pancréatique de caséine	7 g
Chlorure de sodium	5 g
Sels biliaires	1.5 g
Lactose	10 g
Na cl	5 g
Rouge neuter	30 mg
Cristal violet	2 mg
Agar-agar	12 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) final $7,4 \pm 0,2$	

3.2. Préparation:

- Dissoudre 38gde poudre dans un litre d'eau distillée
- Attendre 5 minutes.
- Mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène
- Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à l'ébullition jusqu'à dissolution complète.
- Ajuster le pH à $7,4 \pm 0,2$
- Repartir et éviter la surchauffe du milieu, un chauffage trop prolongé ou des chauffages répétés.

4. Milieu Baird Parker :

4.1. Formule théorique :

➤ **Base déshydratée**

Peptone pancréatique de caséine	10 g
Extrait de levure	1 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de lithium	5 g
Eau distillée	1000 ml
L-Glycine	12 g
Pyruvate de sodium	10 g
Agar	14 g

➤ **Complet (pré coulé)**

Peptone pancréatique de caséine	10 g
Extrait de levure	1 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de lithium	5 g
Eau distillée	1000 ml
L-Glycine	12 g
Pyruvate de sodium	10 g
Agar	14 g
Tellurite de potassium	0.1 g
Jaune d'œuf	10 ml
Sulfaméthazine	0.05 g
pH final (25°C) $7,2 \pm 0,2$	

4.2. Préparation des solutions :

4.2.1. Solution de tellurite :

Tellurite de potassium	1 g
Eau distillée	100 ml

4.2.2. Solution de Pyruvate de sodium :

Pyruvate de sodium	20 g
Eau distillée	100 ml

4.2.3. Émulsion de jaune d'œuf :

- Utiliser des œufs frais de poule à coquille intacte.
- Nettoyer les œufs avec une brosse à l'aide d'un détergent liquide.
- Les rincer à l'eau courante puis désinfecter les coquilles, soit en les plongeant dans l'éthanol à 70 % (fraction volumique) pendant 30 s et les laissant sécher à l'air, soit en les pulvérisant d'alcool suivi de flambage.
- En opérant de façon aseptique, casser chaque œuf et séparer le jaune du blanc par transferts répétés du jaune d'une demi-coquille dans l'autre.
- Placer les jaunes dans un flacon stérile et ajouter quatre fois leur volume d'eau stérile. Mélanger vigoureusement et chauffer le mélange dans le bain d'eau règle à 47° C pendant 2 h et entreposer à +3° C ± 2° C pendant 18 h à 24 h pour laisser se former un précipité. Recueillir aseptiquement le liquide surnageant dans un flacon récemment stérilisé pour l'utilisation.

4.3. Préparation:

- Dissoudre 57g de poudre dans un litre d'eau distillée.
- Attendre 5 minutes, puis Mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène
- Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à l'ébullition jusqu'à dissolution.
- Repartir 90ml de milieu par flacon.
- Stériliser à l'autoclave à 121+_1°c pendant 15 minutes.

5. Milieu viande foie sulfité (VF) :

5.1. Formule théorique :

Peptone viande foie	30 g
Glucose	2 g
Amidon soluble	2 g
Gélose	2 g
Sulfite de sodium	2.5 g
Citrate ferrique ammoniacal	0.5 g
Agar	11 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) avant autoclavage $7,7 \pm 0,1$	

5.2.Préparation:

- Dissoudre 48 g dans 1 litre d'eau pure.
- Chauffer sous agitation fréquente et laisser bouillir 1 minute pour dissoudre complètement la suspension.
- Répartir 20 ml en tube de 18 x 180 mm.
- Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.

6. Milieu IRON (BD Triple Sugar Iron Agar) :

6.1. Formule théorique :

Extrait de viande	3 g
Extrait de levure	3 g
Peptone	20 g
Eau distillée.....	100 ml
Glucose	1 g
Digestion peptique de tissu animal	10 g
Sulfate ferreux ammoniacal.....	300 mg
Chlorure de sodium	5 g

Thiosulfate de sodium.....	0.2 g
Lactose.....	10 g
Rouge de phénol.....	24 mg
Saccharose.....	10 g
Agar.....	11 g
Thiosulfate de sodium anhydre.....	300 mg
pH (25°C) final 7,4 ± 0,2	

6.2. Préparation:

- Dissoudre 63.5 g de poudre dans un litre d'eau distillée.
- Mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène
- Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à l'ébullition jusqu'à dissolution complète.
- Repartir à raison de 10ml par tube et stériliser à l'autoclave à $115 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 15 minutes.
- Laisser reposer en position inclinée de façon à obtenir un culot de 2.5 cm de profondeur.

7. Bouillon RVS :

7.1. Formule théorique :

Peptone de soja.....	4,5 g
Chlorure de sodium.....	7,2 g
Dihydrogénophosphate de potassium.....	1,26 g
Hydrogénophosphate de potassium.....	0,18 g
Chlorure de magnésium (anhydre).....	13,58 g
Vert malachite.....	0,036 g
pH 5,2 ± 0,2	

7.2. Préparation:

- Verser 26,75 g de poudre dans un litre d'eau distillée
- Chauffer doucement pour dissoudre.

- Répartir des volumes de 10 ml en flacons ou en tubes à bouchons vissés.
- Stériliser 15 minutes à 115°C à l'autoclave.

8. Bouillon sélénite cystine :

8.1. Formule théorique :

Tryptone.....	5 g
Lactose.....	4 g
Sélénite acide de sodium.....	4 g
Phosphate disodique.....	10 g
L-cystine.....	0,01 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH final à 25°C : 7,0 ± 0,2

8.2. Préparation:

- Mettre en suspension 23 g dans 1 litre d'eau pure.
- Porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant 2 à 3 minutes.
- Répartir en tubes ou flacons stériles.

9. Milieu XLD (Gélose xylose lysine désoxycholate) :

9.1. Formule théorique :

Extrait de levure en poudre.....	3 g
Chlorure de sodium (NaCl).....	5 g
Xylose.....	3,75 g
Lactose.....	7,5 g
Saccharose.....	7,5 g
Hydrochlorure de L-lysine.....	5 g
Thiosulfate de sodium.....	6,8 g
Citrate d'ammonium-fer.....	0,8 g
Rouge de phénol.....	0,08 g
Désoxycholate de sodium.....	1 g
Gélose.....	9 g à 18 g
Eau.....	1000 ml

9.2. Préparation:

- Dissoudre les composants de base déshydratés ou le milieu complet déshydraté dans l'eau, en chauffant si nécessaire.
- Eviter de surchauffer.
- Si nécessaire, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de $7,4 \pm 0,2$ à $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Répartir le milieu de base dans des tubes ou des flacons de capacité appropriée.
- Chauffer en agitant fréquemment jusqu'à ébullition du milieu et dissolution de la gélose.
- Ne pas surchauffer.

10. Milieu WB (Wilson Blair) :

10.1. Formule théorique :

Peptone.....	5 g
Extrait de viande de bœuf.....	5 g
Glucose.....	5 g
Phosphate disodique.....	4 g
Sulfate ferreux.....	0,3 g
Sulfite de bismuth (indicateur).....	8 g
Vert brillant.....	0,016 g
Agar.....	12,7 g
pH $7,6 \pm 0,2$	

10.2. Préparation:

- Verser 20 g de poudre dans 500 ml d'eau distillée dans un ballon d'un litre.
- Mélanger soigneusement en agitant fréquemment jusqu'à ébullition et laisser frémir pendant 30 secondes pour dissoudre la gélose.
- Refroidir à $50\text{--}55^{\circ}\text{C}$. Bien mélanger pour disperser le précipité et répartir en boîtes (25 ml par boîte).

- Laisser solidifier le milieu, boîte ouverte. Pour préparer de grandes quantités de milieu, utiliser des ballons de volume bien supérieur au volume à préparer.
- Laisser sécher les boîtes avant utilisation mais en évitant leur dessiccation.
- Des boîtes correctement préparées doivent avoir un aspect lisse, opaque, de couleur jaune paille.
- L'indicateur ne doit pas sédimenter.

11. Milieu Hektoen :

11.1. Formule théorique :

Peptone.....	12 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Extrait de levure.....	3 g
Thiosulfate de sodium.....	5 g
Sels biliaires N° 03.....	9 g
Citrate ferrique ammoniacal.....	1.50 g
Lactose.....	12 g
Bleu de bromothymol.....	0,065 g
Saccharose.....	12 g
Fuchsine acide.....	0.10 g
Salicine.....	2 g
Agar.....	14 g
pH final à 25°C : 7,5 ± 0,2	

11.2. Conservation :

Le milieu en flacons ou boîtes se conserve à l'obscurité entre 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

Annexe 04

**Arrêté interministériel du 2 Muharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016
fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires.**

18 JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39		8 Chaoual 1438 2 juillet 2017			
5- Produits de la pêche et de l'aquaculture					
Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc/g)	
		n	c	m	M
Produits de la pêche et de l'aquaculture fabriqués à partir d'espèces de poissons associés à une grande quantité d'histidine ^{(1) (2)}	Histamine	9	2	100 mg/kg	200 mg/kg
Produits de la pêche et de l'aquaculture ayant subi un traitement de maturation aux enzymes dans la saumure, fabriqués à partir d'espèces de poissons associés à une grande quantité d'histidine à l'exception de sauce de poisson ⁽³⁾	Histamine	9	2	200 mg/kg	400 mg/kg
Sauce de poisson produite par fermentation de produits de la pêche et de l'aquaculture	Histamine	1	—	400 mg/kg	
Poissons, céphalopodes et mollusques crus (sauf mollusques bivalves vivants) ⁽³⁾	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 ⁶	10 ⁷
	Coliformes thermotolérants	5	2	10	10 ²
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Mollusques bivalves vivants et échinodermes, tuniciers et gastéropodes marins vivants ^{(4) (5)}	<i>Escherichia coli</i>	5	1	230 NPP*/100g	700 NPP/ 100 g
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Crustacés crus décortiqués	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 ⁶	10 ⁷
	Coliformes thermotolérants	5	2	10	10 ²
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³
	Anaérobies sulfite-réducteurs	5	2	10	10 ²
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Crustacés crus entiers et échinodermes crus	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 ⁶	10 ⁷
	Coliformes thermotolérants	5	2	10	10 ²
	Anaérobies sulfite-réducteurs	5	2	10	10 ²
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	