

AMÉLIORATION DE LA QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DU POISSON FUMÉ *ARIUS SPP*

AYESSOU Nicolas Cyrille Mensah^{(1)*}, GOLI Thierry⁽²⁾, CISSE Mady⁽¹⁾, DIATTA Hortence Koussaye⁽³⁾, FALL Jean⁽³⁾, THIAW Omar Thiom⁽³⁾, NDIAYE Mady⁽³⁾, DIOP Codou Mar⁽¹⁾

RÉSUMÉ

Le poisson du genre *Arius spp* fait l'objet de fumage dans de nombreux pays tropicaux où il est pêché. Sa qualité microbiologique étant souvent médiocre, l'objectif de ce travail est de proposer une piste d'amélioration. Un pré-traitement par trempage pendant trente minutes dans des extraits aqueux de végétaux ayant des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes a été réalisé sur le poisson avant l'opération de fumage. Ainsi, des extraits aqueux de gousses d'ail *Allium sativum* et de graines de *Moringa oleifera* ont été préparés séparément dans un ratio de 20%. Les essais ont été répétés sur deux sites de fumage et les analyses microbiologiques effectuées en double sur les produits finis. Un lot témoin est constitué à partir de poissons fumés sans pré-traitement. La qualité microbiologique du produit fini conservé à 4°C a été évaluée et suivie pendant 15 jours. Les germes d'altération ont été recherchés dans les échantillons au premier, septième puis au quinzième jour. Les résultats ont montré une réduction significative de toutes les souches recherchées. Elle atteint 97%, voire 100% en comparaison au lot témoin. Dans les conditions d'essais, l'action inhibitrice des graines de *Moringa* semble plus marquée que celle de l'ail. Ce pré-traitement permet d'améliorer la qualité microbienne du poisson fumé et de prolonger sa date limite d'utilisation optimale. Cette nouvelle opération offre ainsi une opportunité aux acteurs de cette filière.

Mots clés : Poisson fumé, *Arius spp*, extraits végétaux, qualité microbiologique

ABSTRACT**Improvement of microbial quality of smoked fish *Arius spp***

The microbial quality of smoked catfish (*Arius spp*) pre-treated by plant extracts with antimicrobials and antioxidants properties was examined during two weeks storage at 4°C. Extracts of garlic *Allium sativum* and seeds of *Moringa oleifera* were prepared in a ratio of 20%. Eviscerated fish were washed and soaked for thirty minutes before being smoked. Smoking tests were carried out on two sites and microbiological analyzes in duplicate. Germs due to alteration were investigated in samples the first, seventh and fifteenth days. It was total aerobic mesophilic flora, total and fecal coliforms, sulphite-reducing anaerobes, coagulase negative staphylococci and yeast - mold. Results showed a significant reduction in all strains sought. It reaches 97 % to 100% compared to the control group. In the test conditions, the inhibitory action of *Moringa* seeds seems more pronounced than garlic. This bacteriostatic effect of garlic extracts and *Moringa* improve the microbial quality of smoked fish and extend its deadline for optimal use. This new pre-processing operation can be validly used by producers.

Keywords: Smoked *Arius spp*, preservatives, Plant extract, microbial safety,

(1) Ecole Supérieure Polytechnique- Université Cheikh Anta Diop, BP 5085 Dakar (Sénégal)

(2) CIRAD-UMR-95 Qualisud, 75 rue J.F Breton 34398 Montpellier Cedex 5 (France)

(3) Faculté des Sciences et Techniques- Université Cheikh Anta Diop Dakar (Sénégal)

*Correspondant: BP 5085 Dakar; nayessou@yahoo.fr; Tél : 00221-772514848

INTRODUCTION

Le poisson est un aliment facilement périssable et sujet à une prolifération microbienne. Par conséquent, il doit être vite transformé ou conservé dans un environnement réfrigéré ou congelé (Ames *et al*, 1991). Dans les pays tropicaux où 70% des poissons pêchés sont fumés (Nykanen *et al*, 1999), le caractère artisanal de la technologie et les conditions de manutention ont révélé une qualité microbiologique médiocre des produits finis (Abolagba *et al*, 2011; Da Silva *et al*, 2008; Gueye, 2011). Ce statut microbiologique limite fortement la date d'utilisation optimale (DLUO). Ainsi, pour améliorer cette qualité et la durée de conservation du poisson fumé, de nombreux additifs chimiques peuvent être utilisés par les transformateurs. Il s'agit par exemple du nitrite de sodium, du dioxyde de soufre, des sulfites (Collange *et al*, 1992), de l'acide lactique ou la nisine (Nykanen *et al*, 1999). Cependant, pour éviter les risques

potentiels encourus par ces additifs chimiques et pour une meilleure sécurité alimentaire, des conservateurs alternatifs d'origine naturelle sont nécessaires afin de répondre à la demande des consommateurs. Ces alternatives peuvent être la bio-préservation (Diop *et al*, 2010) mais aussi des extraits végétaux dont les activités antibactériennes sont reconnues (Oseni *et al*, 2013 ; Negi, 2012; Tornuk *et al*, 2011; Nenaah, 2010; Tajkarimi *et al*, 2010). Au Sénégal où les poissons-chats du genre *Arius spp* font l'objet de fumage, de récents travaux ont révélé que 60% du poisson fumé vendu dans les marchés du Sénégal sont de mauvaise qualité microbiologique (Gueye, 2011). Les germes rencontrés sont essentiellement des germes d'altération ou indicateurs d'une contamination d'origine fécale récente. L'objectif de cette étude est d'évaluer dans les conditions de traitement, les effets d'extraits de plantes sur la qualité microbiologique du poisson fumé *Arius spp*. Les plantes identifiées pour ce travail sont déjà signalées pour leurs

activités antibactériennes *in vitro* et leurs propriétés antioxydantes. Il s'agit de l'ail ou *Allium sativum* (Sallam *et al*, 2004; Yin et Cheng, 2003) et des graines de *Moringa oleifera* (Farooq *et al*, 2012; Nepolean *et al*, 2009).

MATERIEL ET METHODES

La préparation des extraits

Les gousses d'ail et les graines de *Moringa* sont broyées séparément. Chaque broyat est mélangé dans une proportion de 100g pour 500mL d'eau puis filtré. Les filtrats obtenus sont testés *in vitro* sur des germes isolés à partir de poissons fumés pour s'assurer de leurs activités antibactériennes. Il s'agit de la flore mésophile aérobie totale, des anaérobies sulfito-réducteurs, des *Staphylococcus* à coagulase négative (SCN), des coliformes totaux et fécaux, des levures et moisissures. Ensuite, le prétraitement est effectué par trempage des poissons éviscérés dans l'extraits pendant 30 minutes. Cette durée correspond au temps de lavage des poissons éviscérés dans les conditions habituelles de production sur les différents sites.

Le fumage du poisson

Deux sites de production sont choisis pour réaliser les essais: l'un qualifié de site « traditionnel amélioré » et l'autre typiquement traditionnel. Le site « amélioré » est doté d'un environnement salubre, de matériels adéquats, un manuel de procédures de fumage et un respect des principes de base des bonnes pratiques d'hygiène contrairement au site « typiquement traditionnel ».

Le fumage est exécuté conformément aux procédures de chaque site de transformation (fig.1). Après l'éviscération, 18 poissons sont échantillonnés de façon aléatoire. Trois lots composés chacun de six poissons sont constitués : un lot témoin, un lot traité à l'extrait d'ail et un lot traité à l'extrait de *Moringa*. Les pièces de chaque lot sont ensuite organisées séparément sur le fumoir et fumées pour une durée de six heures.

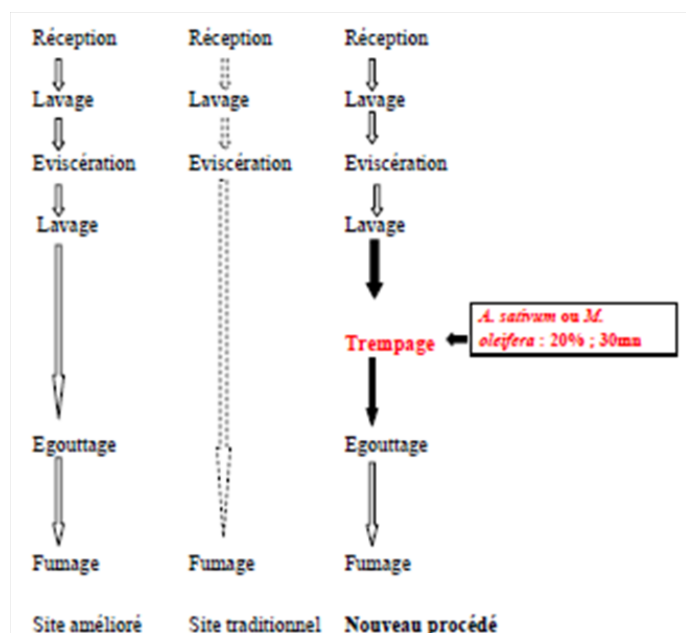


Figure 1: Diagramme de fumage des sites « traditionnel », « amélioré » et « Nouveau procédé »

Les échantillons sont ensuite recueillis aseptiquement dans des sacs stériles et acheminés au laboratoire pour effectuer une analyse microbiologique au jour J_0 . Les différents lots sont conservés à 4°C pendant 15 jours de stockage et analysés tous les 3 jours. Les lots de poissons traitées sont codés comme suit: (T) pour le lot témoin; (M) pour le lot traité aux graines de *Moringa* et (A) pour ceux traités à l'ail.

Les analyses microbiologiques

Les échantillons sont préparés selon la norme spécifique aux produits de la pêche; NF ISO 6887-1 et mis en solution selon NF EN ISO 6887-3. Ils sont soumis au dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT), les coliformes totaux et thermotolérants, les Staphylocoques présumés pathogènes, les levures et moisissures. Les dénombrements et/ou la recherche de ces flores sont faits en double à l'aide des méthodes normalisés ISO et/ou AFNOR (Tableau I).

Le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile a été réalisé sur gélose Plate Count Agar (BIO-RAD, France) incubée à 30°C en aérobiose pendant 72 h ; ceux des coliformes sur la gélose VRBL (BIO-RAD, France) incubés à 37°C en aérobiose pendant 48h pour les coliformes totaux et à 44°C pendant 24h pour les coliformes thermotolérants. Les staphylocoques ont été isolés sur le milieu de Baird Parker (BIO-RAD, France) supplémenté avec le jaune d'œuf au tellurite de potassium après incubation à 37°C pendant 24 à 48h. Les Anaérobies sulfito -réducteurs (ASR) sont incubées en aérobiose sur tubes remplis de milieu sélectif Gélose Trypticase Sulfite Néomycine TSN (BIO-RAD, France) en incubation à 44°C pendant 24h. Les levures/moisissures sont incubées sur gélose Sabouraud au chloramphenicol (BIO-RAD, France) à 30°C pendant 5 jours. Les dénombrements et l'identification des microorganismes recherchés sont exécutés selon des méthodes normalisées françaises (AFNOR, 1996).

Tableau I : Liste des germes recherchés et méthodes utilisées

Micro-organismes	Méthodes d'analyses
Flore mésophile aérobie totale (FMAT)	NF EN ISO 4833, Mai 2003
Staphylocoque à coagulase négative	NF EN ISO 6888-1, Octobre 1999
Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)	Arrêté du 21 décembre 1979 (2.2)
Coliformes totaux	NF ISO 21528 2, Décembre 2004
Coliformes thermotolérants	NF ISO 16649-2, Juillet 2001
Levures et Moisissures	NF ISO 7954, Août 1988

RESULTATS

Au cours de cette étude, 36 échantillons répartis en 6 échantillons par lot et par site ont été analysés. Les résultats des analyses microbiologiques et du suivi sont récapitulés dans le tableau II.

Au premier jour de production, l'effet inhibiteur des extraits d'ail et de *Moringa* sur la FMAT ne semble pas

évident sur le site traditionnel. Cependant il est très marqué dans les échantillons du site ‘amélioré’. En effet sur ces derniers, la FMAT y est complètement inhibée (figure 2). Cette action bactériostatique se poursuit au cours du stockage à 4°C pendant 15 jours. Pendant ce suivi la charge microbienne du témoin est globalement supérieure à celle des échantillons traités aux extraits végétaux (figure 2). Aussi, l’influence de l’hygiène du milieu se traduit sur les résultats car la flore totale évaluée sur le site ‘amélioré’ est toujours plus faible que celle du site ‘traditionnel’.

Tableau II : Charge microbienne des poissons fumés *Arius spp* traités avec des extraits d’ail ou de *Moringa* et conservés à 4°C pendant 15 jours.

Germes	S.C.N	A.S.R	C.T	C.Th	L.M	F.M.A.T
expression	ufc/g					
Lot et jour	‘Site ‘traditionnel					
Témoin J ₀	20700	0	0	0	60	130
T J ₇	31005	0	0	0	1535	113800
T J ₁₅	38660	0	0	0	27000	88500
Ail J ₀	155	0	0	100	200	191
A J ₇	600	0	0	0	35	5700
A J ₁₅	6530	0	0	0	9100	14000
M J ₀	86000	0	0	0	45	230
M J ₇	235	0	145	20	25	2170
M J ₁₅	1250	0	0	0	5	1155
‘Site ‘amélioré						
Témoin J ₀	145	0	370	220	0	230
T J ₇	270	0	0	0	0	320
T J ₁₅	1300	0	140	12	0	46
Ail J ₀	0	0	0	0	0	0
A J ₇	270	0	60	300	0	0
A J ₁₅	4000	0	0	0	0	91
M J ₀	0	0	0	0	0	0
M J ₇	0	0	70	100	0	140
M J ₁₅	0	0	0	0	0	27

J₀ = Jour de fumage ; J₇ = 7^{ème} jour de stockage ; J₁₅ = 15^{ème} jour de stockage

FMAT, flore mésophile aérobie totale ; C.T et C.Th, coliformes totaux et thermotolérants. LM ; levures et moisissures. SCN, Staphylocoques à coagulase négative. ASR, Anaérobies sulfito-réducteurs

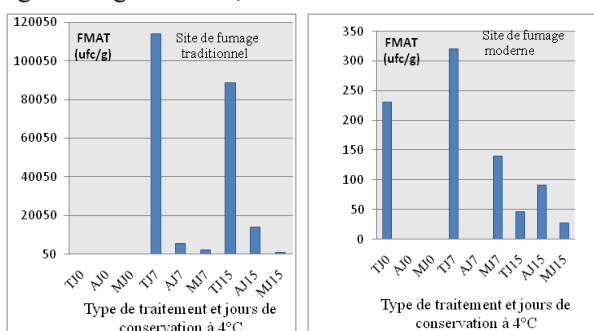


Figure 2 : Suivi de la FMAT dans les échantillons traités aux extraits d’ail et de *Moringa*

Les levures et moisissures sont présentes dans tous les échantillons du site traditionnel contrairement au site ‘amélioré’ où elles y sont absentes. L’effet inhibiteur de ces deux extraits et surtout de *Moringa* sur la croissance des levures et moisissures se manifeste au cours du stockage. Les résultats montrent que les anaérobies sulfito-réducteurs sont absents dans tous les échantillons des deux sites. Les coliformes totaux et thermotolérants sont aussi inhibés par les extraits d’ail et de *Moringa* au jour J₀ sur les deux sites. Cependant ils prolifèrent au 7^{ème} jour avant d’en être absents au 15^{ème} jour.

Comparativement aux témoins, les charges en staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont réduites dans les échantillons traités voire absentes après le traitement aux graines de *Moringa* sur le site « amélioré » (tableau II). Mais, au cours du stockage, on assiste à leur prolifération aussi bien dans l’échantillon témoin comme ceux traités. Les apparentes inversions de résultats observées dans le suivi de la flore de SCN par exemple sont dues au caractère biologique des analyses et à l’hétérogénéité des échantillons. En effet dans les conditions expérimentales, l’ail n’a qu’une action bactériostatique le jour du fumage sur les SCN. Son effet s’annihile et cette flore prolifère au septième jour de façon exponentielle et plus vite que le témoin au 15^{ème} jour. Cependant, les échantillons traités aux extraits de *Moringa* présentent une diminution drastique de cette flore voire son inhibition prolongée jusqu’au 15^{ème} jour (sur le site moderne). Cependant, les résultats de la flore de SCN enregistrés pour le même traitement sur le site dit « traditionnel » présentent une évolution logique. Cette évolution est par contre moins marquée pour les autres germes.

DISCUSSION

La principale préoccupation de cette étude est d’améliorer la technique de fumage du poisson fumé pour en assurer une meilleure qualité microbiologique. La nouvelle opération unitaire de trempage aux extraits végétaux introduite lors du procédé de fumage réduit convenablement la charge microbienne à la fin du fumage. La flore mésophile aérobie totale est de 230 ufc/g dans le témoin et de 0 ufc/g dans les poissons traités (sur le site moderne). Ces résultats sont nettement meilleurs que la FMAT des poissons fumés vendus dans les marchés du Sénégal où elle varie entre 2,2.10⁴ et 3.10⁸ ufc/g (Gueye, 2011). Dans les conditions d’essais, l’action inhibitrice des graines de *Moringa* semble plus marquée que celle de l’ail. Cependant il est probable qu’une augmentation du ratio ail/eau améliorerait ces résultats. Cette activité antibactérienne des extraits d’ail et de *Moringa* permet de garantir une qualité microbienne meilleure que pour le témoin. En effet, au 15^{ème} jour de conservation des échantillons issus du site traditionnel, la FMAT, par rapport au témoin est réduite de 85 et 97% respectivement avec l’ail et le *Moringa* ; les levures et moisissures réduites de 66 et 100% ; les SCN de 83 et 97%. L’ail est bien connu pour ses propriétés antibactériennes (Lemar et al, 2005; Sallam et al, 2004; Yin et Cheng, 2003). De même, les graines et voire les feuilles de *Moringa* ont des propriétés antibactériennes, muscinales et antioxydantes avérées (Farooq et al, 2012;

Saadabi et Zai, 2011).

De plus, la fumée contribue à la conservation du poisson en agissant comme un puissant antioxydant et un agent bactériostatique ou bactéricide (Eyo, 1981; Zuraida *et al*, 2011). Les effets combinés des agents bactériostatiques de la fumée et des épices sont responsables de la baisse drastique de la valeur moyenne des anaérobies, de la flore mésophile, des levures et moisissures. Cette action bactériostatique permet de prolonger la date limite d'utilisation optimale de ces nouveaux produits. Les résultats confirment ceux obtenus sur la carpe *Hypophthalmichthys molitrix* traitée avec 5% d'ail et de gingembre (Frank *et al*, 2014). D'autres résultats similaires ont aussi montré l'utilité avec succès d'autres extraits végétaux pour la conservation du poisson fumé (Da Silva *et al*, 2008; Oulaï *et al*, 2007; Salaudeen *et al*, 2010). Par ailleurs les résultats montrent aussi que les conditions de transformation participent à l'obtention d'un produit fini de qualité microbiologique irréprochable. Le respect des règles d'hygiène associé aux bonnes pratiques de production sont donc fondamentaux.

CONCLUSION

L'effet des extraits d'ail *Allium sativum* et de *Moringa oleifera* sur la qualité microbiologique du poisson fumé *Arius* spp s'est avéré intéressant. Les propriétés bactériostatiques de ces deux végétaux sont par conséquent utiles pour améliorer la qualité sanitaire et prolonger la durée de conservation du produit fini. La duplication des essais sur deux sites met en exergue l'importance des bonnes pratiques d'hygiène au cours de la production. Dans la perspective de garantir une meilleure sécurité des consommateurs, il demeure important aussi d'améliorer les conditions de distribution (manutention, emballage et température de conservation).

REFERENCES

ABOLAGBA O.J.; **ADEKUNLE A.T.**; **DEDE A. P.O** and **OMOIGUI G.O.**, 2011. Microbial assessment of smoked fish (*Clarias spp*) in Benin metropolis, Edo state, Nigeria. Nigerian Journal of Agriculture, Food and Environment, 7 (3): 55-58

AFNOR, 1996. Analyse microbiologique. Tome 2: Contrôle de la qualité des produits alimentaires. Editions AFNOR, Paris, 545p.

AMES F.; **CLUCAS I.** and **PAUL S.S.**, 1991. Post Harvest losses of fish in the tropics. Natural Research Institute Edition, ODA.

COLLANGE F. M.; **PERNOT F.**; **SUCCHETE M.** et **MARESCHI J. P.**, 1992. Estimation de la consommation alimentaire des sulfites en France. Cahier de Nutrition et de Diététique, 5: 352-358.

DA SILVA L. V. A.; **PRINYAWIWATKUL W.**; **KING J. M.**; **NO H. K.**; **BANKSTON JR, J. D.** and **GE B.**, 2008. Effect of preservatives on microbial safety and quality of smoked blue catfish (*Ictalurus furcatus*) steaks during room-temperature storage. *Food Microbiology*, 25 (8): 958-963.

DIOP M. B.; **DESTAIN J.**; **TINE E.** et **THONART P.**, 2010. Les produits de la mer au Sénégal et le potentiel des bactéries lactiques

et des bactériocines pour la conservation. Biotechnol. Agron. Soc. Environ., 14 (2): 341-350.

EYO A. A., 1981. The construction and operation of a new mechanical gas (kainji lake gas kiln) KLR1 technical report series 7.

FAROOQ F.; **RAI M.**; **TIWASI A.**; **KHAN A. A.** and **FAROOQ S.**, 2012. Medicinal properties of *Moringa*: An overview, of promising healer. Journal of Medicinal Plants Research, 6 (27): 4368-4374.

FRANK F.; **XU Y.**; **JIANG Q.** and **XIA W.**, 2014. Protective effects of garlic (*Allium sativum*) and ginger (*Zingiber officinale*) on physicochemical and microbial attributes of liquid smoked silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) wrapped in aluminium foil during chilled storage. African Journ. of Food Science, 8 (1):1- 8.

GUEYE A., 2011. Qualité microbiologique et caractérisation biochimique du poisson *Arius heudelotti* fumé au Sénégal. Mémoire d'ingénieur, Univ. De Dakar, 129p.

LEMAR K. M.; **PASSA O.**; **AON M. A.**; **CORTASSA S.** and **MULLER C.T.**, 2005. Allyl alcohol and garlic (*Allium sativum*) extract produce oxidative stress in *Candida albicans*. Microbiology, 151: 3257-3265.

NEGI P. S., 2012. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. International Journal of Food Microbiology, 156: 7-17

NENAAH G., 2010. Antibacterial and antifungal activities of (beta)-carboline alkaloids of *Peganum harmala* (L) seeds and their combination effects. Fitoterapia, 81 (7): 779-82.

NEPOLEAN P.; **ANITHA J.** and **EMILIN R.R.**, 2009. Isolation, analysis and identification of phytochemicals of antimicrobial activity of *Moringa oleifera* Lam. Curr. Biotica, 3:33-39.

NYKÄNEN A.; **LAPVETELÄINEN A.**; **HIETANEN R.M.**, and **KALLIO H.**, 1999. Applicability of lactic acid and nisin to improve the microbiological quality of cold-smoked trout. Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung A, 208: 116-120.

OULAÏ S. F.; **KOFFI R. A.**; **KOUSSEMON M.**; **DJE M.**; **KAKOU C.** et **KAMENAN** (2007). Evaluation de la qualité microbiologique des poissons *Ethmalosa fimbriata* et *Sardinella aurita* fumés traditionnellement. Microbiol. Hyg. Alim., 19 (55): 37-42.

OSENI L.A.; **GYAMFI S.A.** and **ASSANE C.**, 2013. In vitro antibacterial potential of solvent fractions of aqueous and ethanolic leaf extracts of *Venonia colorata* against selected human pathogenic bacteria. Int. J. Res. Ayurvedia Pharm., 4 (6), 865-868.

SAADABI A.M. and **ZAI A.**, 2011. An *in vitro* antimicrobial activity of *Moringa oleifera* L. seed extracts against different groups of microorganisms. Asian J. Basic Appl. Sci., 5:129-134.

SALAUDEEN M. M.; **AKANDE G. R.**; **OGUNTADE O.R.**; **AFOLABI O.O.**; **OLUSOLA A.O.** and **EZEKIEL M.O.**, 2010. Effet des conservateurs sur la sécurité microbiologique et la qualité du poisson-chat fumé (*Clarias gariepinus*). Acta

SATECH, 3(2): 81 – 86.

SALLAM K. I.; ISHIOROSHI M.; SAMEJIMA K., 2004. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. *LWT—Food Science and Technology*, 37: 849–855.

TAJKARIMI M. M.; IBRAHIM S.A.; CLIVER D.O., 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21: 1199–1218.

TORNUK F.; CANKURT H.; OZTURK I.; SAGDIC O.; BAYRAM O.; YETIM H., 2011. Efficacy of various plant hydrosols as natural food sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* on fresh cut carrots and apples. *International Journal of Food Microbiology*, 148: 30–35.

YIN M. C. and CHENG W. S., 2003. Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic derived organosulfur compounds in ground beef. *Meat Science*, 63: 23–28.

ZURAIIDA I.; SUKARNO O. and BUDIJANTO S., 2011. Antibacterial activity of coconut shell liquid smoke (CS-LS) and its application on fish ball preservation. *International Food Research Journal*, 18: 405-410.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été soutenu par le projet européen « AFTER ». Nos remerciements à l'endroit de tous les participants et de la communauté européenne.