

## Essai de mise au point d'un ferment pour la production artisanale du Lanhouin, un condiment à base de poisson fermenté au Bénin

V. B. Anihouvi<sup>1</sup>, H. J. Toudonou<sup>1</sup>, N. H. Akissoe<sup>1</sup> et J. D. Hounhouigan<sup>1</sup>

### Résumé

Une étude antérieure sur la production artisanale du Lanhouin au Bénin a montré que la durée des phases de maturation et de fermentation constitue les contraintes majeures soulevées par les productrices. A ceci, s'ajoute la qualité sanitaire douteuse du produit. Pour lever ces contraintes, un ferment de type traditionnel a été mis au point et sa performance testée à travers des essais de fermentation. Les caractéristiques microbiologiques et physico-chimiques des poissons mis en fermentation ont été déterminées conformément aux méthodes standard. Les résultats ont montré au plan microbiologique, que les Micrococcaceae et les *Bacillus* spp. étaient les principaux microorganismes aussi bien dans le ferment que les Lanhouin obtenus après fermentation. Une bonne aptitude fermentaire du ferment a été établie, se traduisant par une montée rapide du pH des poissons de 6,90 à 7,54 au bout de 24 h de fermentation avec une phase de maturation contre une montée de 6,92 à 7,23 pour le contrôle après 72 h de fermentation avec maturation. Quant aux poissons mis en fermentation sans phase de maturation, mais en présence du ferment, leur pH a évolué de 6,6 à 7,56 au bout de 60 h alors qu'une augmentation moins marquée a été observée pour le témoin dont le pH est passé de 6,5 à 6,97 pour la même durée de fermentation.

**Mots clés** : Poisson, fermentation, maturation, culture d'amorce, qualité, Bénin

### Development of starter culture for the artisanal production of Lanhouin, a fermented fish based condiment in Benin

### Abstract

A previous study on the artisanal production of Lanhouin in Benin showed that the duration of ripening and fermentation steps constituted the major constraints raised by the processors. In addition, the safety of the products is doubtful. To overcome these constraints, a traditional starter culture was developed and its performance was tested through fermentation trial. The microbiological and physico-chemical characteristics of the fermenting fish were investigated using standard methods. The results showed that Micrococcaceae and *Bacillus* spp were the main micro-organisms present in the developed starter culture and the Lanhouin samples obtained after the fermentation trials. A good performance of the starter culture was observed through an increase in pH of fermenting fish samples from 6.9 -7.54 after 24 h of fermentation with the ripening step while an increase from 6.92 to 7.23 was recorded for the control after 72 h of fermentation. As regards the fish fermented without the ripening step, their pH increased from 6.6 to 7.56 after 60 h of fermentation whereas a low increase in pH (6.5 to 6.97) was observed after the same fermentation time for the control.

**Key words**: Fish, fermentation, ripening, starter culture, quality, Benin

---

<sup>1</sup> Dr Ir. V.B. Anihouvi, Département de Nutrition et Sciences Alimentaires, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 526 Recette Principale, Cotonou 01 Tél.: (00229) 97 26 70 40, Fax: (+229) 21 36 01 22, E-mail : anihvic@yahoo.fr, République du Bénin

Ir H.J. Toudonou, Département de Nutrition et Sciences Alimentaires, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 526 Recette Principale, Cotonou 01 Tél.: (00229) 97 96 28 71, Fax: (+229) 21 36 01 22, E-mail : toudmanau@yahoo.fr, République du Bénin

Prof. Dr Ir. N.H. Akissoé, Département de Nutrition et Sciences Alimentaires, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 526 Recette Principale, Cotonou 01 Tél.: (00229) 97 51 20 24, Fax: (+229) 21 36 01 22, E-mail : noel.akis@yahoo.fr, République du Bénin

Pr. Dr Ir. J.D. Hounhouigan, Département de Nutrition et Sciences Alimentaires, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 526 Recette Principale, Cotonou 01 Tél.: (00229) 97 14 14 11, Fax: (+229) 21 36 01 22, E-mail : joseph.hounhouigan@gmail.com, République du Bénin

## INTRODUCTION

La conservation du poisson dans les pays tropicaux demeure un problème en raison de sa nature très périssable, du manque d'infrastructures adéquates pour la conservation en frais et du fait des conditions climatiques qui favorisent sa dégradation en quelques heures. Ainsi, diverses techniques traditionnelles sont utilisées en vue de limiter les pertes post capture, en particulier en Afrique de l'Ouest où des techniques telles que le séchage, le salage, le fumage et la fermentation sont utilisées individuellement ou en combinaison pour la conservation du poisson frais (FAO, 1981; Anihouvi *et al.*, 2006).

L'une des techniques artisanales de conservation du poisson la plus utilisée de par le monde reste la fermentation. Au Bénin, le Lanhouin est un exemple de produit obtenu par la fermentation. Il est généralement utilisé comme exhausteur de goût dans la préparation de plusieurs mets traditionnels et européens (Anihouvi *et al.*, 2005). A l'instar d'autres produits fermentés du Bénin, tels le Mawè, le Gowé et l'Afitin, le Lanhouin est fabriqué à l'échelle artisanale par la fermentation spontanée (Hounhouigan *et al.*, 1993; Anihouvi *et al.*, 2005; Azokpota *et al.*, 2006; Vieira-Dalodé *et al.*, 2007). Les inconvénients de ce type de fermentation tiennent au fait que très peu de contrôle peut être exercé sur le processus de fermentation et le produit final est souvent de qualité variable avec des risques de défaut de qualité, notamment la formation des substances toxiques telles que les amines biogènes dont l'histamine dans le cas du Lanhouin (Anihouvi *et al.*, 2006). Une étude antérieure des systèmes techniques de production du Lanhouin a montré que le procédé de fabrication du Lanhouin comprend six étapes essentielles qui sont selon les variantes du procédé: le lavage/parage des poissons, la maturation des poissons, le triage des poissons maturés, le salage, la mise en fermentation et le séchage. Cette étude des systèmes techniques de production du Lanhouin a aussi révélé que le temps de maturation qui dure 10 à 15 heures, et celui de la fermentation qui dure 3 à 8 jours constituent des contraintes majeures soulevées par les productrices (Anihouvi *et al.*, 2005). De cette étude, il ressort en outre que les phases de maturation et de fermentation sont des étapes critiques, car déterminantes pour la qualité organoleptique et sanitaire du produit fini. Pour lever ces contraintes, l'utilisation d'un ferment de type traditionnel durant les phases de maturation et de fermentation est envisagée pour réduire la durée de production et améliorer la qualité sanitaire du Lanhouin. Le présent travail vise donc à mettre au point un ferment adapté pouvant servir de culture d'amorce pour la production artisanale du Lanhouin.

## MATERIEL ET METHODES

### Matériel

Les matières premières utilisées pour la production du ferment étaient le poisson bar (*Pseudotolithus* sp.) frais ne présentant aucun signe extérieur d'altération (forme des yeux, couleur des branchies, texture ferme au toucher, odeur caractéristique de poisson frais) acheté au port de pêche de Cotonou et le sel marin (NaCl) du marché. Le poisson a été transporté dans une glacière contenant des carboglaces sur le site de production et au laboratoire pour les essais.

### Méthodes

#### **Caractérisation du poisson mou ou poisson maturé**

Des essais de maturation ont été réalisés auprès de quatre productrices de Lanhouin. Après le parage des poissons (écaillage, éviscération, lavage), les poissons ont été rangés dans un bac en plastique muni de couvercle pour la maturation. Des échantillons de poisson ont été prélevés juste avant la mise en maturation, puis après 8 h, 10 h et 12 h de maturation pour la mesure du pH, et l'appréciation du degré de maturation par la productrice à travers la texture du poisson. Les valeurs de pH ainsi obtenues ont été utilisées comme indicateur pour apprécier le degré de maturation du poisson frais au cours des essais de production du ferment et du Lanhouin en laboratoire.

#### **Production du ferment**

Le ferment a été produit suivant la figure 1. Après 8 h de maturation, le poisson mou a été salé à hauteur de 15% (P/P) puis mis en fermentation pendant 72 h, suivi d'un séchage de 7 h au soleil. La peau du poisson fermenté a été ensuite enlevée, et le filet prélevé et broyé dans des conditions aseptiques (broyeur et spatules nettoyés avec de l'alcool à 70% et manipulation sous hotte à flux laminaire) puis séché à l'étuve à 55 °C pendant 6 h. Le ferment séché ainsi obtenu a été réduit en

poudre toujours dans des conditions aseptiques comme ci-dessus indiqué puis conditionné sous vide dans de sachets stériles et gardé à la température ambiante (28–30 °C).

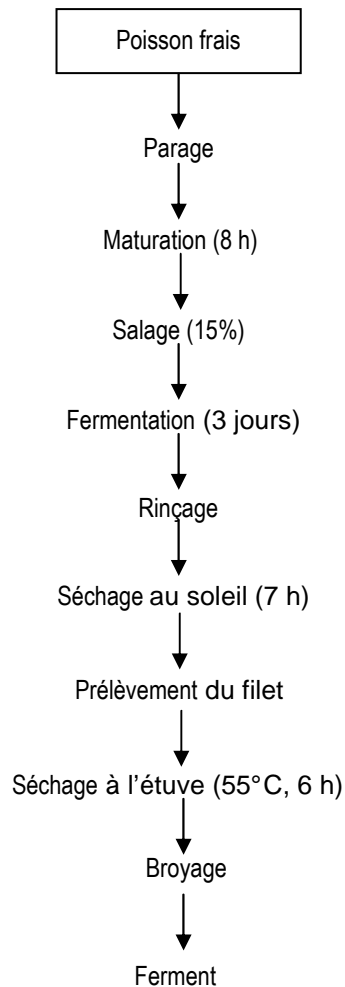


Figure 1. Diagramme de production du ferment

### **Production du Lanhouin à partir du ferment**

Par rapport au dispositif expérimental, le ferment a été ajouté au poisson aux étapes de maturation et de fermentation (variante 1), ou ajouté directement au poisson frais sans passer par l'étape de maturation (variante 2). Dans ce cas, le poisson frais a été directement mis en fermentation après l'ajout du ferment (Figure 2). Pour chacune des variantes de production, 50 g de ferment ont été dilués dans 5 ml d'eau distillée stérile pour traiter 1 kg de poisson frais ou de poisson maturé (poisson mou). Le mélange ferment/eau préparé a été introduit dans les branchies, la cavité abdominale et passé sur la peau; les poissons ont été ensuite disposés dans un bac en plastique et mis en fermentation à la température ambiante (28–30 °C). Le bac en plastique est perforé de petits trous pour favoriser l'évacuation de l'exsudat qui sort du poisson. Des échantillons témoin ont été produits dans les mêmes conditions, conformément à la méthode traditionnelle décrite par Anihouvi *et al.* (2005) et sans utilisation de ferment.

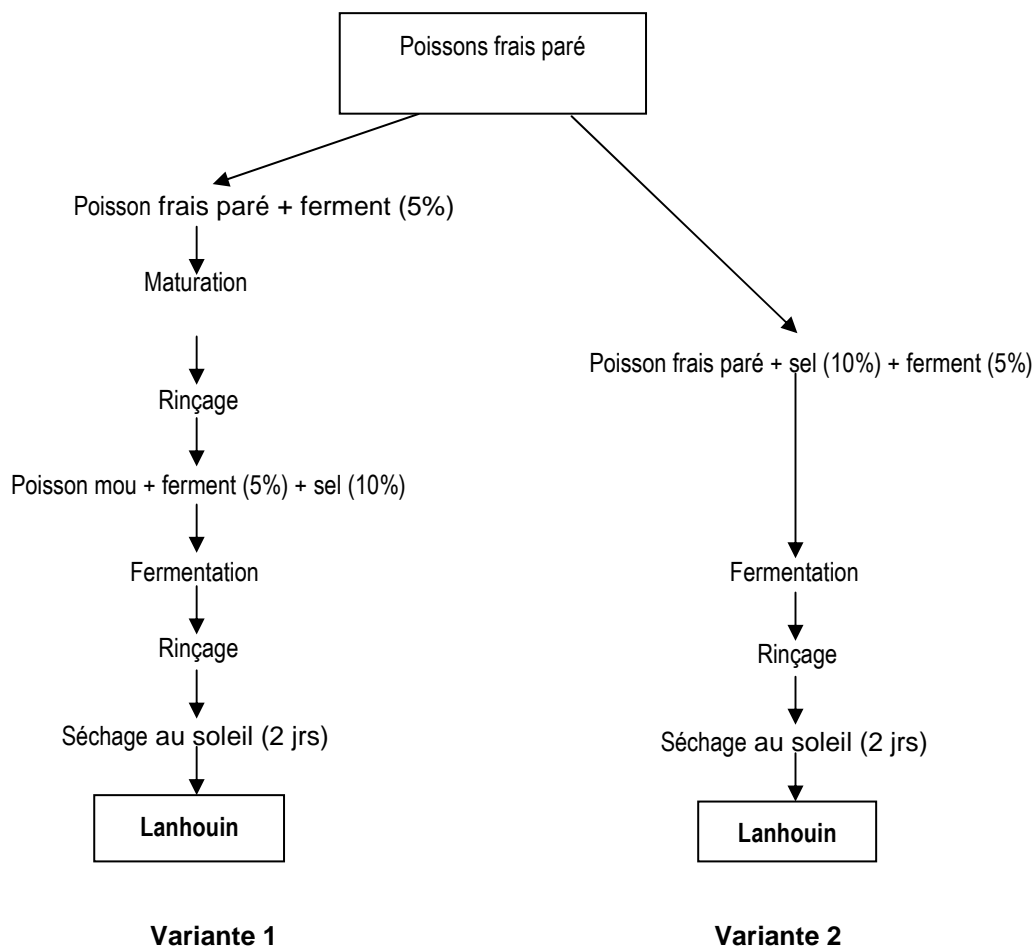


Figure 2. Diagramme expérimental de production de Lanhouin avec ajout de ferment

**Echantillonnage :** Pour le suivi de la maturation après usage du ferment, des échantillons ont été prélevés toutes les 2 h pour la mesure du pH. Pour la phase de fermentation, des échantillons ont été par contre prélevés toutes les 12 heures. La fermentation a été arrêtée quand un niveau de pH compris entre 7,5 et 7,8 est atteint. Les échantillons prélevés ont été soumis à des analyses microbiologiques et physico-chimiques.

**Analyses physico-chimiques :** Le pH des échantillons a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre électronique (Inolab WTW 730) à électrode de verre sur un mélange obtenu à partir de 10 g d'échantillon broyé et 80 ml d'eau distillée (Anihouvi *et al.*, 2006). La teneur en eau a été déterminée selon AOAC (1995), méthode 950.46; la détermination des teneurs en azote basique volatile total (ABVT) des échantillons a été réalisée conformément à la méthode décrite par Ababouch (1995).

**Analyses microbiologiques :** Dix (10) g de l'échantillon ont été introduits de façon aseptique dans un sac de stomacher. On y ajoute 90 ml d'eau peptonée salée [5 g de peptone (Oxoid L 37, Basingstoke, Hampshire, England) 8,5 g de NaCl, pH 7,2] et le mélange homogénéisé au stomacher (Seward Stomacher 400 circulator) pendant 2 minutes pour obtenir la solution mère. Des dilutions décimales successives ont été ensuite réalisées et utilisées pour l'ensemencement des boîtes. La flore aérobie mésophile totale (FAMT) et la flore halophile ont été dénombrées conformément à la norme ISO 4833 (2003). Les salmonelles ont été recherchées conformément à la norme ISO 6579 (2002). Les entérobactéries, *Clostridium* spp et *Staphylococcus aureus* ont été énumérés respectivement sur milieux Violet Red Bile Agar (VRBG, Oxoid 485, Basingstoke, Hampshire, England), Iron Sulphite Agar (SuA, Oxoid CM79, Basingstoke, Hampshire, England) et Baird Parker (BP, LAB 85). Les *Bacillus* spp ont été dénombrés selon Stevenson et Segner (1992) sur milieu

Tryptone Soja Agar (TSA, Oxoid CM 0131, Basingstoke, Hampshire, England). Pour les spores de *Bacillus*, 10 ml de l'inoculum ont été chauffés au bain-marie à 80 °C pendant 15 mn puis 1 ml de la dilution appropriée a été utilisé pour ensemercer les boîtes de TSA. Les micrococaceae ont été énumérés sur Mannitol Salt Agar (MSA, Oxoid, CM 85, Basingstoke, Hampshire, England) selon la méthode décrite par Rodríguez *et al.* (1994). Les boîtes ensemençées ont été incubées à 37 °C pendant 24 h pour les entérobactéries, 24-48 h pour *Clostridium* spp. et *Staphylococcus aureus*. Les boîtes de *Bacillus* ont été incubées à 35 °C pendant 24-48 h.

**Analyses Sensorielles :** Un test de préférence a été réalisé sur le Lanhouin produit avec ou sans ferment et le Lanhouin du marché (Lanhouin témoin). Les échantillons de Lanhouin ont été comparés deux à deux par rapport à la texture, la couleur, l'arôme et l'acceptabilité globale. Un panel de 21 juges non entraînés composés de consommateurs et de productrices de Lanhouin a été utilisé pour le test. Un questionnaire avec une échelle de catégories allant de "aime beaucoup" à "n'aime pas du tout" en passant par un nombre de catégories intermédiaires comme décrit par Watts *et al.* (1991) a été utilisé.

**Analyses statistiques :** L'analyse de variance ANOVA à un facteur et le test de Dunnett ont été réalisés sur les données microbiologiques et physico-chimique/s, et celles de l'évaluation sensorielle pour la comparaison des moyennes grâce au logiciel SAS 9.2 (SAS, Cary, NC, USA). Le niveau de signification retenu est de 5%.

## RESULTATS

### Caractéristiques du poisson mûré

Les mesures de pH réalisées lors des essais de maturation du poisson frais effectués avec les quatre productrices de Lanhouin sont présentées dans le tableau 1. Le pH des échantillons de poisson a augmenté en moyenne de  $6,51 \pm 0,10$  à  $6,91 \pm 0,23$  au bout des 12 heures de maturation. Une différence significative ( $P < 0,05$ ) a été observée entre les valeurs de pH des poissons frais et des poissons mous obtenus après 8 h de temps ; par contre, les valeurs de pH des poissons mûrés pendant 8 h, 10 h et 12 h n'ont pas été significativement différentes ( $P > 0,05$ ). Cependant, en tenant compte des observations faites par les productrices sur l'appréciation du degré de maturation à travers la texture des poissons c'est-à-dire l'aspect non rigide et mou au toucher du poisson mûré, la durée optimale de maturation variait entre 8 et 10 h de temps, ce qui correspondait à une variation de pH ( $\Delta$ pH) de 0,29 et 0,32 point entre le pH du poisson frais et le pH du poisson mûré respectivement pendant 8 h à 10 h de temps.

Tableau 1. Evolution du pH au cours des essais de maturation du poisson réalisés avec les productrices de Lanhouin

| Durée de maturation (h) | pH (n = 8)         |
|-------------------------|--------------------|
| 0                       | $6,51 \pm 0,10^1a$ |
| 8                       | $6,80 \pm 0,31b$   |
| 10                      | $6,83 \pm 0,20b$   |
| 12                      | $6,91 \pm 0,23b$   |

n : nombre d'échantillons de poisson sur lequel les mesures du pH ont été effectuées. 1: moyenne des mesures  $\pm$  écart-type sur 4 essais différents; a, b: les valeurs suivies d'une lettre différente dans la même colonne sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).

### Caractéristiques microbiologiques et physico-chimiques du ferment

Les caractéristiques microbiologiques et physico-chimiques du ferment mis au point sont présentées dans le tableau 2. Par rapport au statut microbiologique, la charge en flore aérobie mésophile totale ( $5,66 \text{ Log ufc/g}$ ) n'était pas significativement supérieure à celle de la flore halophile ( $5,24 \text{ Log ufc/g}$ ); ce qui a montré que la charge microbienne du ferment était majoritairement constituée de flore halophile. La charge des entérobactéries, des *Clostridium* spp. et de *Staphylococcus aureus* était inférieure à  $1 \text{ Log ufc/g}$ . On note par contre l'absence de *Salmonella* dans le ferment fabriqué. Au plan physico-chimique, le ferment élaboré a un pH qui variait entre 5,53 et 5,87; une teneur en eau de  $11,0 \pm 1,4\%$  et une teneur en ABVT comprise entre de  $109,00 \pm 1,81 \text{ mg N/100g}$ .

Tableau 2. Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du ferment

| Paramètres   | Ferment                  |
|--|--------------------------|
| pH   | 5,70 ± 0,17 <sup>1</sup> |
| Teneur en eau (%)  | 11,00 ± 1,40             |
| ABVT dont les résultats exprimés par rapport à la base sèche (mg N/100g) | 109,00 ± 1,81            |
| Flore totale (Log ufc/g de produit)                                      | 5,66 ± 0,14              |
| Flore halophile  | 5,24 ± 0,34              |
| <i>Bacillus</i> spp.   | 4,64 ± 0,06              |
| Spore de <i>Bacillus</i>   | 2,62 ± 0,04              |
| Micrococcaceae   | 5,21 ± 0,05              |
| Entérobactéries  | < 1                      |
| <i>Clostridium</i> spp.  | < 1                      |
| <i>Salmonella</i> (absent dans 25 g de produit)                          | Absent                   |
| <i>Staphylococcus aureus</i>   | < 1                      |

<sup>1</sup> : moyenne des mesures sur deux différentes productions ± écart-type.

### Evaluation de la performance du ferment au cours des essais de production du Lanhouin

L'évolution du pH au cours des différents essais de production de Lanhouin est présentée dans les tableaux 3, 4 et 5.

Tableau 3. Evolution du pH du poisson frais mûré en présence du ferment

| Durée de maturation | pH du                       |              |
|---------------------|-----------------------------|--------------|
|                     | Poisson frais + Ferment     | Témoin       |
| 0 h                 | 6,55 ± 0,120 <sup>2</sup> a | 6,53 ± 0,04a |
| 2 h                 | 6,68 ± 0,06a                | 6,55 ± 0,06b |
| 4 h                 | 6,73 ± 0,02a                | 6,61 ± 0,02b |
| 6 h                 | 6,90 ± 0,15a                | 6,68 ± 0,10b |
| 8 h                 | 7,10 ± 0,12a                | 6,72 ± 0,09b |
| 10 h                | 7,15 ± 0,09a                | 6,77 ± 0,09b |
| 12 h                | 7,21 ± 0,08a                | 6,88 ± 0,10b |

**a, b** : les moyennes portant les lettres différentes sur la même ligne sont significativement différentes au seuil de 5%. <sup>2</sup> : moyenne des mesures sur trois productions indépendantes ± écart-type

Tableau 4. Evolution du pH du poisson mûré en présence du ferment et mis en fermentation après ajout du ferment

| Durée de fermentation | pH du                       |  |
|-----------------------|-----------------------------|--|
|                       | Poisson mou + sel + ferment | Poisson mou + sel mais sans ferment (témoin) |
| 0 h                   | 7,05 ± 0,08 <sup>2</sup> a  | 6,80 ± 0,13a                                 |
| 12 h                  | 7,42 ± 0,13a                | 6,87 ± 0,08b                                 |
| 24 h                  | 7,54 ± 0,14a                | 6,95 ± 0,05b                                 |
| 36 h                  | 7,75 ± 0,08a                | 7,05 ± 0,20b                                 |
| 48 h                  | 7,86 ± 0,10a                | 7,13 ± 0,12b                                 |

**a, b** : les moyennes portant les lettres différentes sur la même ligne sont significativement différentes au seuil de 5% ; <sup>2</sup> : moyenne des mesures sur trois différentes productions ± écart-type

Tableau 5. Evolution du pH du poisson frais mis en fermentation après ajout de ferment mais sans phase de maturation

| Durée de fermentation | pH du                               |  |
|-----------------------|-------------------------------------|--|
|                       | PFF (Poisson frais + sel + ferment) | Témoin (Poisson frais + sel mais sans ferment) |
| 0 h                   | 6,59 ± 0,21 <sup>a</sup>            | 6,58 ± 0,05 <sup>a</sup>                       |
| 12 h                  | 6,85 ± 0,22 <sup>a</sup>            | 6,65 ± 0,19 <sup>a</sup>                       |
| 24 h                  | 7,10 ± 0,10 <sup>a</sup>            | 6,70 ± 0,18 <sup>b</sup>                       |
| 36 h                  | 7,25 ± 0,08 <sup>a</sup>            | 6,75 ± 0,22 <sup>b</sup>                       |
| 48 h                  | 7,40 ± 0,10 <sup>a</sup>            | 6,88 ± 0,04 <sup>b</sup>                       |
| 60 h                  | 7,56 ± 0,08 <sup>a</sup>            | 6,97 ± 0,03 <sup>b</sup>                       |
| 72 h                  | 7,62 ± 0,13 <sup>a</sup>            | 7,02 ± 0,07 <sup>b</sup>                       |

**a,b** : les moyennes portant les lettres différentes sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ). <sup>1</sup>: moyenne des mesures sur trois productions indépendantes ± écart-type.

#### **Effet du ferment sur la durée de maturation du poisson frais**

D'une manière générale, une montée progressive du pH des poissons est observée et passait d'une moyenne de 6,53 à 6,90 après 6 h de maturation pour les échantillons maturés après ajout du ferment alors que ce même niveau du pH (6,88) n'est observé pour les échantillons témoin qu'après 12 h de maturation (Tableau 3). Le test de Dunnett a montré qu'il existe une différence significative ( $P < 0,05$ ) entre les valeurs de pH observées sur le poisson frais maturé avec ferment et celles du témoin. Ainsi, l'application du ferment sur le poisson frais a réduit significativement la durée de maturation.

#### **Effet du ferment sur la durée de fermentation du poisson maturé**

L'évolution du pH du poisson maturé en présence du ferment et mis en fermentation après ajout du ferment (variante 1) est présentée dans le tableau 4. Le pH des poissons mous mis en fermentation après ajout du ferment a évolué graduellement pour atteindre à 24 h, un pH de 7,54 contre 6,95 pour le témoin et à 48 h de fermentation, un pH de 7,86 contre 7,13 pour le témoin. Le test de Dunnett a montré que les valeurs de pH du poisson maturé et fermenté avec le ferment étaient significativement supérieures ( $P < 0,05$ ) à partir de 12 h jusqu'à la fin de la fermentation à celles du témoin c'est-à-dire le poisson maturé sans ferment et mis en fermentation sans ferment.

#### **Effet du ferment sur la durée de fermentation du poisson non maturé**

Par rapport à la variante 2 au cours de laquelle le poisson a été directement mis en fermentation en présence du ferment sans la phase de maturation, une augmentation graduelle des valeurs de pH des deux catégories d'échantillons (poisson frais plus ferment et le témoin) a été observée durant les 72 h de fermentation. Le pH désiré (7,5-7,8) a été atteint au bout de 60 h de fermentation pour les poissons frais mis en fermentation en présence du ferment tandis que ce niveau de pH n'est pas observé chez le témoin après 72 h de fermentation (Tableau 5). Le test de Dunnett a montré qu'il n'existe aucune différence significative ( $P > 0,05$ ) entre les valeurs de pH des deux produits entre 0 h et 12 h. Par contre, à partir de 24 h de fermentation, les pH obtenus sur les deux types d'échantillons étaient significativement ( $P < 0,05$ ) différents.

#### **Qualité microbiologique et physico-chimique des Lanhouin obtenus à partir du ferment**

Les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des Lanhouin obtenus après utilisation du ferment sont présentées dans le tableau 6. Au plan microbiologique, la flore aérobie mésophile totale des Lanhouin obtenus était en moyenne de 5,00 Log ufc/g pour la variante 1 et 5,45 Log ufc/g pour la variante 2. De même, l'absence de *Clostridium* spp. et de staphylocoques pathogènes a été observée sur tous les échantillons de Lanhouin. Au plan physico-chimique, les valeurs de pH variaient entre 7,44 et 7,70 pour les échantillons de Lanhouin séché de la variante 1, et 7,25 et 7,45 pour les échantillons de Lanhouin séché de la variante 2. Une différence significative ( $P < 0,05$ ) n'a pas été observée entre les valeurs de pH des Lanhouin obtenus (Tableau 6). Les teneurs en ABVT des deux catégories d'échantillons ont été significativement ( $P < 0,05$ ) différentes, avec des valeurs moyennes de 143,55 ± 0,94 pour les produits de la variante 1 contre 78,35 ± 3,36 pour ceux de la variante 2.

Tableau 6. Caractéristiques microbiologiques et physico-chimiques des Lanhouin de laboratoire

| Paramètres  | Lanhouin séché obtenu par la  |                               |
|---|-------------------------------|-------------------------------|
|   | variante 1 (LV <sub>1</sub> ) | variante 2 (LV <sub>2</sub> ) |
| pH  | 7,57 ± 0,13 <sup>1</sup> a    | 7,35 ± 0,10a                  |
| Teneur en eau (%)   | 55,48 ± 2,38a                 | 52,31 ± 0,96a                 |
| ABVT dont les résultats exprimés en base humide (mg N/100g) | 143,55 ± 0,94a                | 78,35 ± 3,36b                 |
| Flore totale (Log ufc/g de produit)                         | 4,98 ± 0,00a                  | 5,45 ± 0,38a                  |
| Flore halophile   | 4,35 ± 0,26a                  | 4,94 ± 0,07a                  |
| <i>Bacillus</i> spp.  | 4,36 ± 0,51a                  | 4,65 ± 0,35a                  |
| Micrococcaceae  | 4,37 ± 0,02a                  | 4,42 ± 0,31a                  |
| Entérobactéries   | < 1                           | < 1                           |
| <i>Clostridium</i> spp                                      | < 1                           | < 1                           |
| <i>Salmonella</i> (absent dans 25 g de produit)             | Absent                        | Absent                        |
| <i>Staphylococcus aureus</i>                                | < 1                           | < 1                           |

<sup>1</sup> : moyenne sur deux productions indépendantes ± écart-type ; a, b : les valeurs suivies d'une lettre différente sur la même ligne sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).

### Appréciation de la qualité organoleptique des échantillons de Lanhouin du laboratoire

Les scores des deux Lanhouin sont résumés dans le tableau 7. Le Lanhouin1 a obtenu les notes de préférence significativement plus élevées au seuil de 5% par rapport à la texture (2,75 contre 1,95), l'arôme (3,30 contre 2,7) et le goût (3,40 contre 2,90). Par contre aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) n'a été observée par rapport à la couleur des deux types de Lanhouin. Par rapport à l'acceptabilité globale, les scores obtenus par le Lanhouin des variantes 1 et 2 ont été respectivement de 3,65 et 3,50 sur une échelle de 5. Bien que ces deux variantes aient exhibé de différences significatives pour certains attributs sensoriels, les scores de préférence globale n'ont pas mis en évidence de différence significative ( $P > 0,05$ ) entre les deux échantillons d'une part et celui du Lanhouin du marché (score de 3,60 sur 5) d'autre part.

Tableau 7. Scores de l'évaluation sensorielle des Lanhouin obtenus des deux variantes de production

| Produits : Lanhouin produit de la       | Critères organoleptiques |              |              |              |
|---|--------------------------|--------------|--------------|--------------|
|   | Texture                  | Couleur      | Arôme        | Goût         |
| variante 1 (après 48 h de fermentation) | 2,75 ± 0,35a             | 3,25 ± 0,25a | 3,30 ± 0,12a | 3,40 ± 0,18a |
| variante 2 (après 72 h de fermentation) | 1,95 ± 0,10b             | 3,05 ± 0,30a | 2,7 ± 0,25b  | 2,90 ± 0,12b |

Les chiffres portant les mêmes lettres dans la même colonne ne sont pas significativement différents ( $p > 0,05$ ).

## DISCUSSION

### Appréciation de la durée de maturation du poisson frais pour sa mise en fermentation

La maturation consiste à laisser le poisson sans traitement jusqu'à son ramollissement. Au cours de cette étape, le poisson est soumis à un processus de dégradation tissulaire qui conduit à son ramollissement et ceci sous l'action des enzymes et des microorganismes (Gram, 2003). Par rapport aux essais de maturation réalisés avec les productrices, le poisson mou peut être obtenu après 8 h de temps contrairement à la durée de 12 à 15 h voire 18 h généralement pratiquée par ces dernières ; ce qui conduit à l'obtention de poissons mous à forte odeur d'ammoniac traduisant une intense activité microbienne et enzymatique. Il ressort des essais de maturation réalisés que la durée optimale de maturation varie entre 8 et 10 h de temps. Ces résultats sont en accord avec ceux des travaux de Anihouvi *et al.* (2011) portant sur l'optimisation des conditions de fabrication du Lanhouin. Ces derniers ont en effet montré que la durée de maturation pour obtenir un Lanhouin de meilleure qualité au plan sanitaire varie entre 8 h et 10 h.

### **Caractéristiques microbiologiques et physico-chimiques du ferment mis au point**

Au plan microbiologique, la flore du ferment est majoritairement constituée de micro-organismes de type halophile, notamment les *Bacillus* spp. et les micrococccaceae. L'absence des entérobactéries et des Salmonelles est due à la présence du sel utilisé lors de la phase de fermentation conduisant à l'obtention du ferment. Cette présence du sel rend le milieu hostile au développement de ces micro-organismes. Selon Horner (1997), une concentration en sel supérieure à 5% inhibe le développement de la flore non halophile. Sur le plan physico-chimique, le pH acide ( $5,70 \pm 0,17$ ) obtenu sur le ferment séché est probablement dû au séchage car la réduction de la teneur en eau, peut contribuer à la concentration des acides organiques produits lors de la fermentation. La présence de certaines espèces de micrococccaceae tels que *Staphylococcus xylosus* à un niveau de charge relativement élevé dans le Lanhounin peut justifier ce pH bas obtenu après le séchage (Anihouvi *et al.*, 2007). En effet, *S. xylosus* est souvent utilisé comme micro-organisme acidifiant lors de la production des saucisses (Annalisa *et al.*, 2007). De plus, d'autres types de micro-organismes tels que *Streptococcus* spp. sont aussi identifiés dans le Lanhounin même si ces derniers sont présents à un niveau relativement bas (Anihouvi *et al.*, 2007). De même, la présence d'acide organique tel que l'acide lactique lors de la fermentation spontanée du poisson est signalée par Anihouvi *et al.* (2007). Une observation similaire est aussi rapportée par Omafuvbe *et al.* (2002) lors de la fermentation alcaline des graines de soja pour la production de soja-daddawa. La faible production d'acide lactique observée lors de la fermentation alcaline du poisson peut aussi s'expliquer par la présence d'hydrate de carbone dans la chair du poisson, en dépit de sa très faible teneur. Après le séchage, la teneur en eau finale du ferment est de  $11 \pm 1,49\%$ . Ce niveau de teneur en eau est désiré pour limiter le développement des microorganismes et les réactions enzymatiques au cours de la conservation du ferment, et favoriser par conséquent une meilleure stabilité du ferment.

### **Performance du ferment pour la production du Lanhounin**

Les travaux antérieurs effectués par Anihouvi *et al.* (2005) ont montré que le pH du Lanhounin traditionnel du marché varie entre 7,5–7,8. Les résultats de la présente étude montrent qu'au bout de 24 h de fermentation, seul le pH du poisson mou (poisson mûri) mis en fermentation après ajout du ferment atteint le niveau de pH désiré (pH 7,54) tandis que ce niveau n'est atteint qu'après 48 h de fermentation pour le poisson mou mis en fermentation sans apport de ferment (Tableau 4) c'est-à-dire 24 h plus tard, ce qui signifie que la durée de fermentation peut être réduite de 24 h au moins si le ferment est utilisé comme culture d'amorce (starter). Cette différence observée par rapport à l'évolution du pH est due au ferment qui a contribué à la montée rapide du pH. En effet, la flore microbienne du ferment étant composée essentiellement de *Bacillus* et de micrococccaceae, l'activité protéolytique conjuguée de ces micro-organismes sur la chair du poisson peut être à l'origine de la montée du pH. Cette montée du pH est liée à la présence des composés azotés dont l'ammoniac, résultant de la dégradation des protéines de la chair du poisson sous l'action desdits microorganismes (Gram, 2003; Anihouvi *et al.*, 2007). Une évolution similaire du pH est rapportée par Abbey *et al.* (1994) et Sanni *et al.* (2002) lors de la fermentation spontanée du Momone, un poisson fermenté du Ghana.

### **Qualité microbiologique et physico-chimique des Lanhounin obtenus à partir du ferment**

La flore totale (FT) des Lanhounin de la variante 1 est inférieure à la limite admissible (5 Log ufc/g) tandis que celle des Lanhounin de la variante 2 est légèrement supérieure à la norme (Tableau 6). Toutefois, la FT des échantillons de la variante 2 est largement en dessous de celle rapportée par Anihouvi *et al.* (2005) sur le Lanhounin de marché et qui est en moyenne de 6,5 Log ufc/g. Par ailleurs, l'absence de *Clostridium* spp. et de staphylocoques pathogènes dans les Lanhounin fabriqués au cours de la présente étude est un indicateur de meilleure qualité contrairement aux échantillons de Lanhounin du marché sur lesquels les *Clostridium* spp. et les staphylocoques pathogènes sont dénombrés, mais à des niveaux de charge relativement faible (Anihouvi *et al.*, 2006). Les valeurs de pH des échantillons de Lanhounin obtenus par les deux variantes de production sont supérieures à 7 (Tableau 6). D'autre part, il n'existe pas un pH standard pour les produits fermentés de poisson auquel on peut faire référence. Toutefois, un niveau de pH supérieur 7 est attendu à partir du moment où le Lanhounin est fabriqué à partir de poisson frais partiellement altéré. Des valeurs de pH supérieures à 7 sont rapportées sur divers produits de poisson fermenté (Essuman, 1992; Abbey *et al.*, 1994; Sanni *et al.*, 2002). La teneur en ABVT est un critère d'appréciation du niveau d'altération du poisson frais et produits de poissons transformés. Les valeurs d'ABVT obtenues (Tableau 6) sur les Lanhounin des

deux variantes sont nettement inférieures à celles rapportées par différents auteurs (Abbey *et al.*, 1994 ; Anihouvi *et al.*, 2006 ; Anihouvi *et al.*, 2007); ces valeurs sont aussi nettement inférieures au seuil admis pour les produits transformés de poisson qui est de 500 mg/100g (Silva *et al.*, 1998). Toutefois, on observe une différence significative ( $P < 0,05$ ) entre les valeurs d'ABVT des Lanhouin obtenus à partir des deux variantes. La faible valeur d'ABVT obtenue au niveau du Lanhouin de la deuxième variante est probablement due à la suppression de la phase de maturation qui constitue une étape durant laquelle le poisson est soumis à un processus de dégradation tissulaire sous l'action des enzymes et des microorganismes. Ceci peut également s'expliquer par l'utilisation du sel dès le début de la fermentation empêchant ainsi, la prolifération de la flore d'altération susceptible de dégrader les protéines.

Au plan organoleptique, le score le plus élevé est attribué au Lanhouin de la variante 1 qui selon les dégustateurs a un meilleur goût et un meilleur arôme comparativement au Lanhouin de la variante 2. La différence observée notamment au niveau de l'arôme et de la texture est prévisible du fait de la non application de la phase de maturation enzymatique pour la variante 2. Ces résultats démontrent l'importance de la phase de maturation dans le procédé de fabrication du Lanhouin. Toutefois, il est aussi important d'améliorer la conduite de la maturation afin d'améliorer la qualité sanitaire du Lanhouin traditionnel.

## CONCLUSION

L'étude permet de mettre au point un ferment de type traditionnel, d'évaluer son aptitude à fermenter le poisson pour la production de Lanhouin traditionnel. Les résultats obtenus permettent d'envisager une nouvelle technologie de production artisanale du Lanhouin à travers l'usage d'un ferment de type traditionnel. Une réduction du temps de fermentation est observée quelle que soit la variante du procédé utilisée pour la production du Lanhouin. Cette réduction de la durée de fabrication améliore la qualité microbiologique et physico-chimique des Lanhouin obtenus. Au plan sensoriel, le produit de la variante 1 obtenu à 48 h de fermentation enregistre le score de préférence le plus élevé. Toutefois, il est important d'étudier la stabilité et la performance du ferment dans le temps.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs adressent leurs sincères remerciements au Projet AIRES-Sud pour son appui financier.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ababouch, L.H., 1995: Assurance qualité en industrie halieutique. Manuels Scientifiques et Techniques, Ed. CTES, pp80-84.
- Achinewhu, S.C., Oboh, C.A., 2002: Chemical, microbiological and sensory properties of fermented fish products from *Sardinella* sp. in Nigeria. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2, 53-59.
- Abbey, L.D., M. Hodari-Okae, A. Osei-Yaw, 1994: Studies on traditional processing and quality of fermented fish (momone). Ghana/Netherlands Artisanal Fish Processing and Applied Research Project Report. Food Research Institute, Accra, Ghana, 48 p.
- Analissa, C., A. M-Conception, C. Silvana, D. Rossela, E. Danilo, T. Fidel, V. Francesco, 2007: Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Villo di Diano (Southern Italy) as affected by the use of starter cultures. *Meat Science*, 76, 295-307.
- Anihouvi, V.B., J.D. Hounhouigan, G.S. Ayernor, 2005: La production et la commercialisation du Lanhouin, un condiment à base de poisson fermenté du Golfe du Bénin. *Cahiers Agricultures*, 14(3), 23-330.
- Anihouvi, V.B., J.D. Hounhouigan, G.S. Ayernor, 2006: Quality characteristics of Lanhouin: a traditionally processed fermented fish product in the republic of Benin. *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development*, 6(1), 1-15.
- Anihouvi, V.B., E. Sakyi-Dawson, G.S. Ayernor, J.D. Hounhouigan, 2007: Microbiological changes in naturally fermented cassava fish (*Pseudotolithus* sp.) for Lanhouin production. *International Journal of Food Microbiology*, 116 (2), 287-291.
- Anihouvi, V.B., F. Saalia, E. Sakyi-Dawson, G.S. Ayernor, J.D. Hounhouigan, 2011: Response surface methodology for optimizing the fermentation conditions during the processing of cassava fish (*Pseudotolithus* sp.) into Lanhouin. *International of Engineering Science and Technology*, 3 (9), 7085-7095.
- Azokpota, P., J.D. Hounhouigan, M.C. Nago, M. Jakobsen, 2006: Esterase and protease activities of *Bacillus* spp from afitin, iru and sonru, three African locust bean (*Parkia biglobosa*) condiments from Benin. *African journal of Biotechnology*, 5 (3), 265-272.
- AOAC, 1995: Association of Official Analytical Chemists. 16th edition Official Methods of Analysis, vol. 2. Gaithersburg, Maryland, US.

- Demeyer, D., 1992: Meat fermentation as an integrated process: 31-36. In: Smulders, F.J.M, Toldra, F., Flores, J., Prieto M., (eds). New technologies for meat and meat products, ECCEAMST, Audettijdschriften, Nijmegen.
- FAO, 1971: United Nations Food and Agriculture Organisation. Poisson fermenté et produits dérivés. Préparé par I. M Mackie, R. Hardy et G. Hobbs. FAO fish. Rep (Fr), 100, 62p
- FAO, 1981: United Nations Food and Agriculture Organisation. The prevention of losses of cured fish. FAO Fish. Tech. Rap., 219, 87 p.
- Gram, L., 2003: Fermented fish products microbiology and technology, <http://www.dfu.min.dk/micro/lg.htm>, consulté le 13/02/2003 à 20 h.
- Hounhouigan, D.J., M.J.R. Nout, M.C. Nago, J.H. Houben, F.M. Rombouts, 1993: Composition and microbiological and physical attributes of mawè, fermented maize dough from Bénin. *International Journal of Food Science and Technology*, 28, 513-17.
- Horner, W.F.A., 1997: Preservation of fish by curing (drying, salting and smoking): 32–72. In: Hall,G.M., (ed). Fish processing Technology, 2<sup>nd</sup> edition, Blackie Academic & Professional (Chapman & Hall) London.
- ISO 6579, 2002: Microbiologie des aliments, méthode horizontale pour la recherche de *Salmonella* spp., 4<sup>ème</sup> édition, 27 p.
- ISO 4833, 2003 : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes- Technique par comptage des colonies à 30 °C, 3<sup>ème</sup> édition, 9p.
- Omafuvle, B.O., S.H. Abiose, O.O. Shonukan, 2002: Fermentation of soybean (*Glycine max*) for soy-daddawa production by starter cultures of *Bacillus*. *Food Microbiology*, 19, 561-566.
- Rodríguez, M., F. Núñez, J.J. Córdoba, C. Sanabria, E. Bermúdez, M.A. Asensio, 1994: Characterization of *Staphylococcus* spp. and *Micrococcus* spp. isolated from Iberian ham throughout the ripening process. *International Journal of Food Microbiology*, 24, 329-335.
- Sanni, A.I., M. Asiedu, G.S. Ayernor, 2002: Microflora and chemical composition of momoni, a Ghanaian fermented fish condiment. *Journal of food composition and analysis*, 15, 577-583
- Silva, C.C.G., D.J.B. Da Ponte, M.L.N. Dapkevicius, 1998: Storage temperature effect on histamine formation in big Eye Tuna and Skipjack. *Journal of Food Science*, 63 (4), 644 –647.
- Stevenson, K.E., Segner, W.P., 1992. Mesophilic aerobic sporeformers: 265-274. In: Vanderzant, C., Spliistoesser, D.F. (Eds). Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 3rd ed., American Public Health Association, USA.
- Vieira-Dalode, G., L. Jespersen, J. Hounhouigan, P.L. Moller, C.M. Nago, M. Jakobsen, 2007: Lactic acid bacteria and yeasts associated with gowé production from sorghum in Benin. *Journal of Applied Microbiology*, 103 342-349.
- Watt, B.M., L. Ylimakig, L.E. Jeffery, L.G. Elias, 1991: Basic methods for sensory evaluation of foods. CRDI, Ottawa.