

Les perspectives naturelles pour la préservation de la viande

Djamel Djenane

Maître de Conférences

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques. Dpt.: Biochimie et Microbiologie. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Résumé

L'oxygène atmosphérique associé aux radiations lumineuses et à la contamination microbienne superficielle de la viande provoquent une altération rapide du produit. Cette altération est beaucoup plus accélérée dans le cas des produits élaborés à base de viandes fraîches, puisque les manipulations auxquelles sont soumis, augmentent considérablement le risque microbien, et par conséquent une rapide altération. D'autre part, il est bien connu l'effet catalyseur des processus photooxydatifs qu'exerce la lumière, particulièrement les radiations ultraviolettes émises par les tubes fluorescents habituellement utilisés sans se rendre compte dans l'illumination des vitrines frigorifiques des grandes surfaces.

Le conditionnement des aliments sous atmosphères modifiées a connu des progrès extraordinaires. La raison réside dans leur capacité d'assurer le maintien des caractéristiques qualitatives de ces aliments pendant une large période de conservation. L'émergence de nouvelles espèces bactériennes psychrotrophes pathogènes dans les viandes emballées a incité les chercheurs à développer des systèmes barrières de conservation. Les souches bactériocinogéniques des bactéries lactiques constituent la meilleure alternative pour la sécurité sanitaire des aliments grâce à leur capacité de produire des métabolites actifs contre plusieurs bactéries pathogènes.

Le rôle des antioxydants dans l'industrie agroalimentaire consiste à réduire au minimum la dégradation des aliments durant l'entreposage. De nos jours, la découverte des bénéfices des antioxydants dans notre organisme transforme notre perception: ils sont devenus des substances vedettes parmi les aliments santé.

L'usage simultané de deux ou plusieurs facteurs de conservation constitue une alternative prometteuse et efficace. La durée de conservation des produits pourrait atteindre le double, voire même le triple selon le type d'association. La notion de synergie entre les systèmes antioxydants et antimicrobiens est aussi une alternative intéressante qui mérite d'être envisagée pour l'assurance qualité des aliments.

Mots clés: Viande, préservation, photooxydation, antioxydant, antimicrobien, atmosphère modifiée, bioconservation, système combiné

1- Introduction

Le contrôle des réactions d'oxydation dans le muscle vivant est assuré par plusieurs systèmes antioxydants endogènes. Cependant, durant les diverses opérations de transformation de la viande, cet équilibre est rompu et, par conséquent, les réactions d'oxydation dans le muscle "*post-mortem*" seront difficilement maîtrisables. Des modifications des composés chimiques de la viande auront lieu. Ce phénomène est la conséquence d'une réaction entre l'oxygène (O_2) atmosphérique et les acides gras insaturés (AGI), ainsi que le développement de la flore aérobie superficielle. À travers les différentes réactions d'oxydation, des changements organoleptiques apparaissent, perte de valeur nutritive et dans certains cas, la présence de substances toxiques [1]. Ces altérations seraient plus significatives dans le cas des produits élaborés à base de la viande fraîche.

Dans le but d'augmenter autant que possible la durée de conservation des différents types d'aliments, plusieurs méthodes ont été proposées. Citons: l'usage des gaz non conventionnels comme l'argon (Ar) et le monoxyde de carbone (CO); les antioxydants naturels, sources d'illumination non oxydantes et systèmes antimicrobiens.

Le conditionnement des aliments sous atmosphères modifiées (AM) a connu des progrès extraordinaires. La raison réside dans la capacité des AM d'assurer le maintien des caractéristiques qualitatives durant une large période de conservation [2]. Il n'est pas donc, surprenant que durant ces dernières années, cette technique de conservation fasse l'objet d'un développement spectaculaire. La viande rouge n'est pas une exception, bien qu'elle présente des caractéristiques différentes aux autres aliments. La nécessité d'incorporer des hautes concentrations en O_2 aux mélanges gazeux vient déterminer pour la convenance de maintenir la couleur rouge vif, propre à la forme réduite et oxygénée de la myoglobine (Mb), synonyme souvent d'une viande fraîche. En générale, les mélanges de gaz utilisés dans le conditionnement des viandes contiennent des proportions variables d' O_2 , de dioxyde de carbone (CO_2) et d'azote (N_2). Les mêmes mélanges sont appliqués aux produits carnés, tels que, les hamburgers, Merguez, boulettes de viande, saucisses, etc.

Dans les grandes superficies, les viandes sont généralement exposées en vitrines frigorifiques illuminées et, pour des raisons de marketing, cette illumination devrait être continue. Le consommateur accorde une très grande importance à l'aspect externe du produit (il est bien connu qu'il "mange avec les yeux", mais il "achète aussi avec les yeux"), qu'il utilise pour apprécier: l'identité, authenticité, fraîcheur et rapport prix/qualité du produit. Les tubes fluorescents habituellement utilisés à cet effet peuvent constituer la cause principale d'altération des caractéristiques chimiques de la viande, provoquant ainsi des pertes énormes pour le retrait du produit de la chaîne commerciale. DJENANE et ses collaborateurs [3] ont rapporté que les tubes fluorescents installés dans les vitrines frigorifiques habituellement utilisés dans les grandes surfaces émettent de petites quantités de radiations ultraviolettes A (UV-A).

Le rôle des antioxydants dans l'industrie agroalimentaire consiste à réduire au minimum la dégradation des aliments durant l'entreposage. Déjà, dans l'antiquité, les aliments étaient placés dans l'huile avec des herbes et des épices parce qu'on avait remarqué qu'ils se conservaient mieux ainsi. De nos jours, la découverte des bénéfices des antioxydants dans notre organisme transforme notre perception: ils sont devenus des substances vedettes parmi les aliments santé.

L'altération microbienne est synonyme d'un développement microbien croissant responsable de mise hors consommation du produit à cause des changements sensoriels (couleur, odeur et texture). La pathogénicité ou virulence sont définies comme un développement d'un nombre suffisant de bactéries pathogènes, d'une manière que l'ingestion du dit produit peut engendrer des effets pathologiques. Il serait possible qu'un aliment présente des symptômes d'altération sans risque de pathogènes et vice-versa [4]. De nombreux chercheurs ont exprimé leur inquiétude du risque des pathogènes dans certains aliments conditionnés sous atmosphères modifiées [5]. Ainsi, la possibilité de supprimer la flore commune d'altération pourrait favoriser le développement de certaines bactéries virulentes. Cependant, certaines souches de bactéries lactiques productrices de bactériocines "bactériocinogéniques" constituent la meilleure alternative dans l'assurance qualité des aliments. De plus, les nouvelles tendances alimentaires et notamment l'engouement vers les produits naturels et probiotiques ont contribué à l'explosion du marché.

L'usage simultané de plusieurs facteurs de conservation sous forme de systèmes combinés pourrait être très utile pour potentialiser l'efficacité de chaque facteur individuel.

L'objectif de cet article est de caractériser les difficultés de préservation de la viande et produits carnés et, de réaliser une synthèse bibliographique sur quelques méthodes naturelles susceptibles d'assurer l'innocuité et d'augmenter la durée de conservation desdits produits, en maintenant inaltérées durant de longues périodes leurs caractéristiques organoleptiques, spécialement la couleur et l'odeur.

2- Durée de conservation

La durée de conservation des viandes fraîches reste toujours une préoccupation majeure pour l'industrie. Plusieurs facteurs peuvent interférer dans la stabilité de la viande et, par conséquent, dans la durée de conservation de cette dernière. L'interaction entre les différents facteurs et, dans certains cas, le manque de connaissances concernant ces interactions a contribué significativement à la difficulté de trouver une solution définitive au problème de décoloration de la viande fraîche.

De nombreux auteurs ont examiné la relation entre l'oxydation lipidique et de Mb. Les réactions d'oxydation sont extrêmement complexes, raison pour laquelle ont été utilisés des modèles plus simples pour expliquer les mécanismes. En générale, les études ont été réalisées dans des solutions relativement pures du pigment de viande associées à des lipides liposomiques. Ces systèmes modèles ne contiennent pas des composés natifs du muscle: composés antioxydants et prooxydants [6]. DJENANE [7] a rapporté que les réactions d'oxydation des lipides et de Mb sont intimement liées en viandes, bien qu'il ne soit pas possible de déduire de ces données, si l'oxydation du pigment serait la cause de l'oxydation des lipides ou vice-versa.

Les radicaux libres produits lors de la dégradation des aliments peuvent dans l'organisme se lier aux aminoacides ou agir comme agents mutagènes. C'est pourquoi, la stabilité chimique des aliments est depuis longtemps étudiée. L'oxydation des lipides est un processus qui consomme l'O₂; cependant, l'oxydation de la Mb est affectée par les pressions partielles d'O₂ (pO₂); ainsi, les basses pressions favorisent la formation de MetMb. Il serait probable que les réactions d'oxydation lipidiques et la prolifération de la flore aérobie superficielle diminuent la concentration d'O₂ dissous jusqu'à des niveaux critiques qui conduisent à l'oxydation de la Mb [6].

3- Photooxydation

De nos jours, les variétés des produits carnés exposés aux consommateurs dans les supermarchés sont majeures. Ils sont généralement emballés dans des barquettes couvertes d'un film plastique transparent. L'illumination des vitrines par des tubes fluorescents pourrait avoir des conséquences néfastes sur la qualité des produits exposés [8]. Dépendant principalement des caractéristiques physiques et de l'intensité de la source lumineuse exercée sur la surface du produit [9]. BERTELSEN et SKIBSTED [10] ont rapporté que l'oxydation de la Mb est accélérée aussi bien par l'augmentation de la température comme par la présence des radiations lumineuses. Les températures abusives accélèrent les réactions d'oxydation. Par contre, à des basses températures, l'oxydation du pigment est favorisée par les réactions photooxydatives. Toutes ces données laissent entendre qu'il serait nécessaire de mettre en place des systèmes qui permettraient d'inactiver les effets de la lumière, cette dernière pourrait être la cause de la formation des radicaux libres, en provoquant la décoloration superficielle des viandes fraîches et la formation des odeurs indésirables [3;11]. Dans certains aliments, la riboflavine (Vitamine B2), la chlorine, la porphyrine et la chlorophylle agissent comme des agents de photosensibilisation dans les réactions photochimiques [12]. La riboflavine est capable de générer $^1\text{O}_2$ qui réagit avec les acides gras insaturés pour déclencher la chaîne radicalaire [13].

Les tubes fluorescents habituellement utilisés possèdent des spectres d'émission conçus pour ressortir la couleur des viandes, en particulier les tons rouges. Le **tableau 1** montre le spectre d'émission d'un tube fluorescent standard utilisé habituellement pour l'illumination des vitrines frigorifiques des supermarchés (Mazdafluor Aviva TF/36 w). On apprécie clairement les émissions dans la région visible (400-700nm) qui proportionnent le ton de couleur désirée et celles correspondantes à la région UV-A (max. à 360 nm). Contrairement, et sur le même tableau, on distingue que le tube Promolux® (Platinum L36 w) émet majoritairement dans la région visible, l'émission au dessous de 390 nm est nulle. Dans une étude concernant l'effet des différentes sources de lumière sur la qualité des viandes emballées, DJENANE et ses collaborateurs [3] ont rapporté que le taux de MetMb superficielle des viandes exposées au tube standard peut atteindre les 70% durant 17 jours d'exposition, tandis que celles exposées au tube Promolux® ou bien, en présence d'un filtre polycarbonate peuvent atteindre 40% de MetMb durant 28 jours d'exposition. Ces résultats renforcent l'hypothèse que les sources de lumière utilisées habituellement dans les supermarchés possèdent la capacité prooxydante à cause de l'émission de petites quantités de radiation UV-A.

D'autre part, la viande sujette à l'action de l'illumination est généralement emballée dans un matériel plastique. Les matériaux utilisés jouent le rôle de barrière aux gaz et à l'humidité. Ils ont aussi, des propriétés optiques bien déterminées. Le tableau 2 représente le spectre de transmission du matériel laminé utilisé dans le conditionnement de la viande (polyéthylène (PE)/polyamide (PA), 80/20 μm , perméabilité au vapeur d'eau: 5-7 $\text{g}/\text{m}^3/24\text{h}$ à 23°C ; perméabilité à O_2 : 40-50 $\text{ml}/\text{m}^2/24\text{h}$ à 23°C). La transmission est de 80% dans la région visible et 60-70% dans la région de violet (330-390 nm). Elle est presque nulle à 275 nm. Le polycarbonate (filtre UV) (Tableau 2) montre une transmission de 80 % dans la région visible (410-700nm) et 0% au dessous de 400 nm. Les viandes entreposées à l'obscurité n'ont pas présenté des signes d'altération durant toute la durée d'entreposage, tandis que celles illuminées avec des tubes fluorescents standards ont montré une durée de conservation très courte à cause de la formation des odeurs indésirables et accumulation de grandes proportions de MetMb superficielle [3]. Récemment, DALY et ACTON [14] ont rapporté que le maintien des viandes hachées emballés sous atmosphères riches en O_2 dans les vitrines frigorifiques

illuminées après leur retrait d'un antérieur entreposage à l'obscurité pendant 2-3 jours ne nécessitent pas l'usage d'un filtre UV même qu'il est bien établi que les tubes fluorescents installés à cet effet émettent de petites quantités de radiations UV.

Pour des raisons de marketing, les matériaux transparents sont toujours utilisés. Ils ont l'inconvénient d'avoir une faible barrière aux radiations UV. Si on tient compte que les tubes fluorescents standards émettent à 390 nm et le matériel plastique n'empêche pas que le produit soit soumis à l'action de cette radiation prooxydante [3].

L'incorporation au matériel d'emballage un absorbant des radiations UV s'avère intéressant pour résoudre les problèmes d'optimisation des conditions de vente des viandes. ANDERSEN et ses collaborateurs [15] ont étudié l'effet de l'incorporation au matériel d'emballage une substance absorbante des radiations UV (hydroxybenzophénone). L'hydroxybenzophénone exclue effectivement les radiations comprises entre 350 et 220 nm, région dans laquelle le PE est totalement transparent. L'exposition à la lumière de la viande emballée en PE accélère clairement les phénomènes de décoloration, spécialement durant la première phase d'entreposage. Contrairement, les viandes emballées dans un matériel incorporé d'un protecteur UV ont montré des signes d'altération minimales.

Tableau 1

Transmission lumineuse de: Film polycarbonate utilisé en tant que filtre UV;
film plastique (polyéthylène/polyamide: PE/PA) utilisé dans le
conditionnement des viandes fraîches sous atmosphères modifiées

Longueur d'onde (nm)	Transmission (%) Polycarbonate	Transmission (%) PE/PA
188	0	0
22	0	0
280	0	2.53
360	0	65.43
380	0	68.22
400	6.95	70.60
420	81.91	72.61
540	88.46	80.09
560	88.35	81.01
580	88.05	81.47
600	88.58	82.40
660	90.50	83.70
700	91.33	84.48

4- Atmosphères modifiées

4.1- Gaz conventionnels

Les gaz utilisés dans le conditionnement des aliments sont variables. Chaque type d'aliment, selon ses propres caractéristiques, nécessite un mélange de gaz spécifique. La faisabilité des atmosphères modifiées doit se reposer sur des processus expérimentaux préalables, à travers lesquels sera déterminée la proportion gazeuse idéale pour chaque produit. D'autre part, un excès dans la proportion gazeuse pourrait avoir des conséquences néfastes sur la qualité finale du produit, citons: la prolifération microbienne, les réactions d'oxydation, les altérations de la couleur et odeurs et les pertes en poids. Généralement, O₂ doit être totalement éliminé (sous vide) ou réduit au minimum dans le mélange (au dessous de la concentration critique). Cependant, le conditionnement sous atmosphères modifiées des

viandes rouges implique des hautes concentrations en O₂. Cependant, la perte de couleur chez la moëlle osseuse constitue un grand problème qui affecte l'apparence de l'os joint à la viande. La destruction des cellules sanguines durant la découpe résulte probablement de la libération et accumulation de Hb en surface de l'os. LANARI et ses collaborateurs [16] ont signalé que le conditionnement sous haute concentration en O₂ dans une atmosphère modifiée serait detrimental pour la stabilité oxydative de l'os.

La vitesse d'oxydation des steaks cuits emballés sous 80% O₂ pourrait être prévenue en utilisant un emballage sous vide ou atmosphère modifiée avec 0,4% CO [17]. L'exclusion d'O₂ et l'addition de 0,4% CO dans l'emballage minimise les réactions d'oxydation chez la côtelette du bœuf en comparaison avec un conditionnement sous AM riche en O₂ (80% O₂) [18].

Le CO₂ est utilisé dans le mélange gazeux grâce à sa capacité antimicrobienne. La température influe décisivement sur l'effet antimicrobien de CO₂, au fur et à mesure que la température diminue, la solubilité de CO₂ dans le produit augmente, et par conséquent son effet bactériostatique augmente [19]. L'azote (N₂) est utilisé fondamentalement pour retarder les réactions d'oxydation. Pour son inertie, il est souvent utilisé comme un gaz de remplissage, évitant ainsi le rétrécissement du matériel d'emballage dans le cas des aliments qui absorbent le CO₂ et fixent de O₂.

4.2- Gaz non conventionnels

L'usage d'argon (Ar) n'est pas habituel. Néanmoins, il pourrait remplacer N₂ dans le conditionnement de certains aliments sous AM. Ses possibles propriétés additionnelles en viandes ne sont pas encore bien connues. Récemment, ROCCULI et ses collaborateurs [20] ont rapporté que le conditionnement des pommes traitées sous AM contenant 25% Ar a permis de prolonger leur durée de conservation de 10 jours.

Nous avons réalisé dans nos laboratoires plusieurs expériences sur les divers mélanges gazeux contenant différentes concentrations Ar. Les résultats obtenus n'ont pas été publiés, malgré que nous en devons conclure du point de vue de l'entreprise agroalimentaire que Ar pourrait remplacer à N₂ dans le conditionnement des viandes. Du fait, certaines entreprises espagnoles commercialisent actuellement plusieurs mélanges de gaz incluant Ar dans les différentes formulations (PEDRO RONCALÉS; COMMUNICATION PERSONNELLE).

La répercussion de CO sur la santé publique est fondamentalement liée à son union avec la molécule hémoglobine du sang (Hb) formant ainsi, la carboxyhémoglobine (HbCO), laquelle limite la capacité du transport O₂ dans l'organisme. La présence de HbCO altère aussi la dissociation de l'oxyhémoglobine (HbO₂), de façon que la distribution O₂ aux tissus musculaires soit ultérieurement réduite. L'affinité de l'Hb humaine envers le CO est presque 240 fois supérieure qu'envers O₂ [21]. Cependant, le CO a constitué un objectif de recherche depuis plusieurs décennies (**Tableau 2**). Le motif fondamental est que la présence de CO dans l'atmosphère qui entoure la viande engendre la formation de carboxymyoglobine (MbCO). Cette forme de Mb, non seulement présente une couleur attractive, mais aussi, elle est très stable devant les réactions d'oxydation. Par conséquent, on peut comprendre l'intérêt de l'industrie de viande vis-à-vis de ce gaz. Précisément, ses détracteurs ont invoqué ces propriétés pour argumenter que son usage pourrait induire en erreur le consommateur sur l'état de la qualité réelle du produit.

Les effets antioxydant et antimicrobien de CO ont été mis en évidence par plusieurs chercheurs [22;23]. La présence de petites concentrations pourrait favoriser la stabilité de la couleur de la viande fraîche durant de longues périodes de conservation sans qu'il ait apparence d'une couleur "rouge cerise artificielle" qui pourrait être jugée inacceptable par le panel des consommateurs.

L'estimation de la concentration de CO nécessaire pour atteindre une limite de toxicité dans un mélange gazeux fût établie par la norme de l'organisme "International Standards" [24]. Ainsi, selon SØRHEIM et ses collaborateurs [25] le risque de toxicité qui pourrait surgir de l'usage de concentrations minimales de CO dans le conditionnement de la viande serait insignifiant.

JAYASINGH et ses collaborateurs [26] ont rapporté que la dissipation de CO dans l'air ambiant suite à l'ouverture des barquettes contenant des morceaux de viande emballés sous atmosphère modifiée est considérée au dessous des limites de sécurité (<0,0035%). En outre, selon certains auteurs, le CO résiduel dans la viande se libère en grande proportion durant les opérations de cuisson [27].

En Europe, durant les deux dernières années ont existé des pourparlers dirigés par certains experts du secteur en faveur de l'inclusion de CO dans la liste des gaz autorisés, toujours que sa proportion dans le mélange soit minimale [28]. Dans chaque pays membre a été créée une commission. Notre laboratoire de Zaragoza a été désigné centre de référence par le Ministère de la Santé Espagnol.

Tableau 2

Usage de monoxyde de carbone (CO) pour la préservation des viandes fraîches.

Atmosphère					Prétraitement (heure)	Espèce	Référence
CO	CO ₂	N ₂	O ₂	Air			
2	-	-	-	98	-	Bœuf	El-Badawi <i>et al.</i> , 1964
0.1-10	-	99.9-90	-		-	Bœuf	Clark <i>et al.</i> , 1976
99	-	-	-	-	2-16	Bœuf	Clark <i>et al.</i> , 1976
1	50	-	-	49	-	Bœuf	Gee et Brown, 1978
1-5	-		-	99-95	-	Bœuf	Lanier <i>et al.</i> , 1978
1	51	18	30	-	-	Bœuf	Seidmann <i>et al.</i> , 1979
2	20	78	-	-	-	Bœuf	Renerre <i>et Labadie</i> , 1993
90	-	10	-	-	1	Bœuf	Rozbeh <i>et al.</i> , 1993
100	-	-	-	-	0.5	Bœuf	Brewer <i>et al.</i> , 1994
1	20	9	70	-	-	Bœuf	Luño <i>et al.</i> , 1998
0.4	60	40	-	-	-	Bœuf /Porc	Sørheim <i>et al.</i> , 1999
0.4	60	40	-	-	-	Bœuf	Nissen <i>et al.</i> , 2000
0.1-1.0	50	25.0-25.9	24	-	-	Bœuf	Luño <i>et al.</i> , 2000
0.5	50	49.5	-	-	-	Dinde	Fraqueza <i>et al.</i> , 2000
1-10-		99-90-0	-	-	-	Bœuf	Tsemakhovich <i>et</i>

100						/Poulet	Shaklai, 2000
0.4	60	40	-	-	-	Bœuf	Sørheim <i>et al.</i> , 2001
0.5	60	39.5	-	-	-	Bœuf	Jayasingh <i>et al.</i> , 2001
5	60	35	-	-	24	Bœuf	Jayasingh <i>et al.</i> , 2001
100	-	-	-	-	1	Bœuf	Jayasingh <i>et al.</i> , 2001
0.4	30	69.6	-	-	-	Bœuf	Hunt <i>et al.</i> , 2004
0.4	30.3	69.3	-	-	-	Bœuf	John <i>et al.</i> , 2005
0.4	30	69.6	-	-	-	Bœuf	Mancini <i>et al.</i> , 2005

Les membres du comité scientifique européen étaient unanimes quant au non risque sanitaire associé aux viandes fraîches emballées sous CO (0,3-0,5%) en conditions d'anoxie (suppression d'O₂ dans l'atmosphère) à une température d'entreposage n'excédant pas 4°C [28]. Depuis l'année 1985, l'industrie de viande Norvégienne avait utilisé des concentrations de 0,4% en CO pour le conditionnement sous atmosphères modifiées des viandes fraîches bovines, ovines et porcines. Les compositions gazeuses utilisées étaient: 0,3-0,4% CO, 60-70% CO₂ et 30-40% N₂. Dans ce pays nordique, environs 60% des viandes fraîches ont été conditionnées dans de telles atmosphères [29].

L'utilisation du CO dans ce pays pour le conditionnement des viandes fraîches a été interdite à partir du 1 Juillet 2004, à cause de l'introduction des normes réglementaires imposées par EU. Son interdiction serait essentiellement basée sur le rapport du comité scientifique européen d'environnement émis le mois de juin 2003 et, dont le CO ne figurait pas parmi les gaz "additifs" autorisés (SØRHEIM: Communication Personnelle).

En Février 2002, le ministère de l'agriculture (USDA) et l'administration délivrant l'autorisation de mise sur le marché des médicaments et des produits alimentaires aux États-Unis (FDA) ont approuvé conjointement l'usage de 0,4% CO accompagné de 30% CO₂ et le reste N₂ dans le conditionnement de la viande.

Malgré cette interdiction et analysant tous les travaux de recherche concernant le CO, on apprécie la faible diversité quant aux concentrations des mélanges utilisés; la plus part des auteurs sont unanimes quand aux effets positifs du CO dans la stabilité de la couleur de la viande, mais son utilisation généralisée reste toujours conditionnée par les aspects toxicologiques.

5- Décontamination superficielle

Les environnements de production des viandes sont toujours contaminés par de nombreux microorganismes dont la présence peut affecter directement ou indirectement la qualité des produits finis. Parmi les différentes flores présentes, certaines sont directement impliquées dans l'altération des produits et d'autres peuvent être pathogènes. Pour limiter la présence de la flore indésirable, les industriels utilisent le plus souvent des procédés de décontamination drastique qui détruisent sans distinction tous les germes présents. De telles approches ont prouvé leur efficacité, notamment dans le cas des produits frais. Le concept de décontamination sélective a été développé par les chercheurs, dans le but d'éliminer des surfaces des bactéries pathogènes et d'altération.

De nombreux chercheurs ont étudié l'effet de certains acides organiques sur les microorganismes superficiels de la viande [30;31]. Les acides organiques (acide acétique, lactique et propionique) ont été utilisés pour prolonger la durée de conservation des viandes

de différentes espèces, basant sur l'élimination physique des microorganismes et aussi sur la réduction du pH. La baisse du pH en surface de la viande pourrait être à l'origine des altérations chimiques, attribuées à la dénaturalisation de la globine. En présence de hautes concentrations d'acide lactique, le Fe^{2+} du groupe hème s'oxyde en forme de Fe^{3+} , donnant naissance à la formation de métmyoglobine (MetMb). ZEITOUN et DEBEVERE [32] ont rapporté que la viande fraîche traitée avec 2, 5, 7,5 et 10% d'acide lactique, conditionnée sous atmosphère modifiée contenant 90% CO_2 +10% O_2 a montré des durées de conservation de 14, 15, 16 et 17 jours à 6°C, respectivement, tandis que, les durées de conservation des viandes non traitées ont été amoindries de 1, 2, 3 et 4 jours, respectivement. GODDARD et ses collaborateurs [33] ont observé que le traitement superficiel de la viande avec 2% d'acide lactique associé à 2% d'acide acétique a montré un effet trop marqué sur la croissance microbienne de diverse espèces présentes dans la viande sans altérer les propriétés organoleptiques de la viande durant presque 4 mois à -1°C.

Au niveau industriel, la détermination individuelle du pH de chaque morceau de viande est peu raisonnable. Cependant, il serait intéressant que le système mis en place pour le conditionnement de la viande offre les mêmes possibilités de durée de conservation pour tous les morceaux, y compris les viandes sombres, fermes, sèches (DFD).

6- Bactéries lactiques

De nombreux auteurs ont exprimé leur inquiétude concernant la sécurité des aliments emballés sous AM [34]. La possibilité de supprimer la flore d'altération pourrait engendrer des risques de pathogènes.

Les bactéries lactiques ont été utilisées depuis plusieurs siècles pour la conservation des denrées alimentaires. Actuellement, en raison d'une expansion intensive de la distribution des viandes fraîches, la qualité microbiologique a varié et d'autres problèmes sont apparus (listérioses, par exemple). L'ingestion de *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) peut occasionner des pathologies très graves pour notre organisme. La majorité des cas des listérioses affectent les femmes enceintes, les personnes malades (alcoolisme, diabète, cirrhose du foie, transplantation d'organe, etc.) ou bien les personnes dont le système immunitaire est déjà affecté (SIDA). Devant cette situation urgente, une nouvelle approche dans la sécurité des aliments a vu le jour. La majorité des techniques actuelles de conservation des aliments sont basées sur des processus technologiques complexes, et dans plusieurs cas les industriels préfèrent opter pour l'utilisation des conservants chimiques. Cependant, le nombre des consommateurs qui demandent des produits "naturels" est chaque fois majeur. Les risques de Listérioses seront minimes, si la multiplication n'aurait pas lieu durant la préparation, l'entreposage et éventuellement au cours de la distribution des aliments. Les bactéries lactiques constituent la meilleure alternative de préservation naturelle grâce à leur capacité de synthétiser des métabolites antimicrobiens.

Dans une étude récente basée sur la paléontologie et données moléculaires et métaboliques, TAILLIEZ [35] a rapporté que les bactéries lactiques sont apparues depuis presque trois mil millions d'années. La description et la caractérisation d'un grand nombre de bactériocines durant ces dernières années et leur spectre d'activité étendu contre la flore d'altération et pathogène fait de ses substances d'excellents candidats pour répondre à l'attente légitime des consommateurs qui exigent des produits plus naturels, plus sûrs et moins altérables.

6.1.- Métabolites antimicrobiens des bactéries lactiques

Les systèmes antimicrobiens produits par les bactéries lactiques offrent un potentiel énorme pour le développement des méthodes de conservation naturelles effectives des aliments.

6.1.1.- Acide lactique

C'est le principal métabolite produit par les bactéries lactiques; responsable souvent de la baisse du pH dans divers aliments. L'acide lactique est souvent utilisé dans la décontamination superficielle des carcasses entières des différentes espèces animales [3;36]. L'acide lactique peut franchir la membrane cellulaire des bactéries, en se dissociant à l'intérieur de cytoplasme. Les molécules chimiques issues lors de cette dissociation peuvent interférer avec les fonctions vitales de la cellule bactérienne [37]. En outre, cette dissociation provoque une augmentation de protons à l'intérieure de la cellule bactérienne jusqu'au moment où la concentration des protons excède la capacité tampon du cytoplasme, ces derniers seront transportés vers l'extérieur à travers une pompe de protons, diminuant ainsi les réserves énergétiques de la cellule. Quand ces réserves sont épuisées, la pompe de protons cesse de fonctionner, et le pH interne diminue lentement, provoquant ainsi la dénaturalisation des protéines et la déstabilisation des autres composés structurels et fonctionnels de la cellule bactérienne, interférant ainsi dans les fonctions vitales de cette dernière [38].

6.1.2.- Peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène est produit par une grande variété de bactéries lactiques non productrices de catalase, en particulier les *Lactobacillus*. Le développement en aérobiose des bactéries lactiques conduit à la formation de plusieurs métabolites O₂, tel H₂O₂, qui possède un effet bactériostatique et bactéricide contre plusieurs microorganismes. L'effet bactéricide de H₂O₂ est attribué au fort pouvoir oxydant qu'il peut exercer au niveau de la cellule bactérienne. *Pseudomonas spp.* et d'autres bactéries psychrotrophes sont spécialement sensibles à l'action de H₂O₂, de même pour *Staphylococcus aureus* [39]. Cependant, l'usage de H₂O₂ dans la conservation des aliments est limité, pour sa nature fortement oxydante.

Dans le lait cru, le H₂O₂ produit par les bactéries lactiques réagit avec le thiocyanate endogène. Cette réaction est catalysée par la lactopéroxydase, formant ainsi des produits d'oxydation intermédiaires qui inhibent le développement microbien [40]. Les bactéries lactiques produisent le H₂O₂ comme conséquence d'un mécanisme de protection contre l'O₂ [41].

6.1.3.- Reuterine

La reuterine (β -hydroxypropionaldéhyde) est produite en conditions d'anaérobiose et en présence de glycérol par le *Lactobacillus reuterii* [39]. C'est une substance qu'on peut trouver dans le tractus gastro-intestinal et parfois dans la viande. Elle a un intérêt considérable dans la santé publique pour son spectre d'inhibition élargie contre les bactéries Gram-positives (*Listeria*), Gram-négatives (*Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Candida*) et quelques protozoaires (*Tripanosome*) [42]. Son mécanisme d'inhibition est attribué principalement à l'inactivation de l'enzyme ribonucléotide réductase responsable de la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ADN).

6.1.4.- Diacétyle et acétaldéhyde

Le diacétyle est produit par les bactéries lactiques mésophiles qui fermentent le citrate, tandis que l'acétaldéhyde est produit à partir de la fermentation de lactose par les bactéries lactiques thermophiles [39]. Ils jouent un rôle important dans la production d'arôme et de saveur dans les produits lactés. L'acétaldéhyde possède une grande capacité inhibitrice sur les bactéries Gram+ et Gram-. Cependant, son usage dans les aliments est réduit pour son arôme intense. De plus, son effet inhibiteur est enregistré uniquement à des concentrations élevées [39].

6.1.5.- Bactériocines

Les bactériocines sont définies comme un groupe hétérogène de peptides qui varient dans leur spectre antimicrobien, propriétés biochimiques, mécanismes d'action et caractéristiques génétiques [43]. Elles présentent une grande hétérogénéité dans leur spectre antimicrobien, d'où leur classification en plusieurs groupes. Les bactériocines peuvent avoir un effet bactériostatique ou bactéricide contre les bactéries sensibles; cette différence est influencée par divers facteurs: la concentration de la bactériocine ou son grade de purification, l'état physiologique de la souche bactérienne prescrite et les conditions expérimentales (température, pH, présence des agents qui peuvent endommager l'intégrité cellulaire et la présence d'autres agents antimicrobiens) [44].

6.2.- Bactéries lactiques bactériocinogéniques

Durant cette dernière décennie, un grand nombre de peptides antimicrobiens de synthèse ribosomal (bactériocines) produits par les bactéries lactiques ont été identifiés et caractérisés. Cette situation a permis à de nombreux chercheurs de connaître les caractéristiques biologiques, biochimiques et génétiques essentielles de ces bactéries, tels leur spectre antimicrobien, structure, propriétés physico-chimiques, mode d'action, mécanisme d'immunité et organisation des déterminants génétiques impliqués dans leur biosynthèse, transport et régulation de leur production [45].

Par ailleurs, plusieurs scientifiques ont mis l'accent sur la détermination et la caractérisation de nouvelles substances antimicrobiennes produites par les bactéries lactiques. Les mécanismes qui contrôlent la synthèse et la production des bactériocines sont généralement conditionnés par le stress écologique (mécanisme de survie).

Les bactériocines exercent leur activité bactéricide provoquant la perméabilisation de la membrane cytoplasmique des cellules bactériennes sensibles à travers la formation de pores. Le déséquilibre osmotique généré et la perte de phosphate inorganique, altèrent le potentiel de la membrane et le gradient de pH, provoquant ainsi la paralysation vitale de la bactérie [46]. On ne connaît pas avec exactitude le mécanisme à travers lequel les bactériocines sont transportées vers le milieu extracellulaire, certains auteurs ont suggéré la participation de certains transporteurs spécifiques [44]. D'autre part, le microorganisme producteur doit être doté d'un système immunitaire contre sa propre bactériocine.

Dans une révision bibliographique concernant les bactériocines des bactéries Gram+, JACK et ses collaborateurs [46] ont proposé une nouvelle définition plus large des bactériocines basant sur des critères différents à ceux employés traditionnellement. Ces auteurs ont défini les bactériocines comme "un groupe hétérogène de substances bactériennes antimicrobiennes de synthèse ribosomale sécrétées dans le milieu extracellulaire,

possédant un spectre d'action antimicrobien qui pourrait être réduit et limité, au moins, à certaines souches bactériennes de la même espèce”.

L'intérêt croissant concernant les bactériocines est dû à une série de faits: l'approbation que certaines bactériocines sont considérées des substances saines et la reconnaissance que la majorité des maladies fréquentes sont associées aux toxi-infections microbiennes provoquées lors de l'ingestion des aliments infectés. La viande et les produits carnés constituent les substrats excellents pour l'isolement des *Lactobacillus* productrices de bactériocines qui peuvent être utilisées comme des facteurs de sécurité en viandes.

La nisine était la première bactériocine mieux caractérisée. Les premières recherches scientifiques concernant la nisine ont écarté très vite son application clinique, à cause de sa faible solubilité aux valeurs de pH physiologique et sa vulnérabilité aux enzymes digestives, par conséquent, l'impossibilité de son administration par voie orale [47]. L'usage de la nisine en viande est limité à cause de sa faible solubilité au pH normal de cette dernière, son interaction avec les phospholipides et la difficulté de sa production “*in situ*” car le microorganisme producteur (*Lactococcus lactis*) ne peut ni se développer ni produire cette bactériocine en viande réfrigéré [48]. Cependant, VANDENBERGH [49] a rapporté que la nisine inhibe la germination des spores thermorésistantes.

L'équipe de recherche de Dr. HUGAS (IRTA, Monells, Espagne) a réalisé d'excellents travaux sur les bactéries lactiques productrices de bactériocines associées aux produits carnés frais et fermentés. Ces auteurs ont caractérisé biochimiquement et génétiquement de nouvelles bactériocines liées aux produits carnés [50;51]. Les méthodes de réfrigération conventionnelles pour la préservation des aliments n'écartent pas le risque de *Listeria*; ce microorganisme peut même se développer dans les produits emballés sous vide.

De nombreuses études ont confirmé l'usage de souches lactiques pour inhiber des bactéries pathogènes dans divers aliments. Malheureusement, les composés de la matrice alimentaire peuvent parfois anéantir l'efficacité des bactériocines produites «*in situ*».

JACOBSEN et ses collaborateurs [52] ont rapporté que l'usage des souches bactériocinogéniques serait plus efficace dans un milieu liquide que dans une matrice alimentaire. Cependant, plusieurs chercheurs ont examiné l'effet de ces souches lactiques sur les bactéries pathogènes uniquement dans des milieux de cultures adaptés et par la suite extrapoler les résultats à d'autres échelles.

DJENANE et ses collaborateurs [53] ont inoculé des steaks avec deux souches de bactéries lactiques; *Lactobacillus sakei* CTC 372 (bactériocinogénique: *Sakacine* T) et *Lactobacillus* CTC 711 (non caractérisée). Les steaks ont été ensuite conditionnés sous atmosphères modifiées (70% O₂/20% CO₂/10% N₂; 60% O₂/40% CO₂). Les deux souches lactiques ont permis de retarder de 10 jours le développement de la flore d'altération superficielle. En outre, Les deux souches lactiques ont provoqué une inhibition de 67,3% sur *L. monocytogenes* cultivée dans un milieu de culture à 25°C (**Figure 1**). Probablement, les souches lactiques ont atteint une phase logarithmique maximum à cette température et, par conséquent, une production suffisante de bactériocine qui pourrait être la cause principale de l'inhibition de *Listeria*. Néanmoins, même à 3 et 8°C, l'inhibition de *L. monocytogenes* a été significative. Ce qui explique l'avantage que peuvent avoir ces deux souches dans la préservation des viandes réfrigérées, notamment en conditions d'entreposage à des

températures abusives. La **figure 2** reprend les courbes de croissances correspondantes aux deux souches lactiques (*Lb. sakei* CTC 372 et *Lb.* CTC 711).

BREDHOLT et ses collaborateurs [54] ont rapporté que *L. monocytogenes* a été inhibé par *L. sakei* TH1 sur des jambons conservés à 4 ou 8°C. De plus, la qualité sensorielle des jambons n'a montré aucune altération pendant la durée d'entreposage (28 jours). Ces mêmes auteurs ont confirmé la non bactériocinogénocité de cette bactérie, cependant, à des températures $\leq 8^{\circ}\text{C}$, cette bactérie exhibe un développement majeure. Ainsi, l'effet antagoniste enregistré est probablement dû aux phénomènes de compétitivité envers les micronutriments.

De nos jours, la technologie génie génétique offre un potentiel énorme dans l'usage des bactéries lactiques à des fins antimicrobiennes, particulièrement les bactéries bactériocinogéniques qui sont utilisées dans la biopréservation des aliments grâce à leur bonne activité antimicrobienne contre divers microorganismes et aussi pour leur neutralité envers les caractéristiques sensorielles des aliments. Le clonage génétique permettrait le transfert des propriétés d'une espèce ou souche bactérienne à une autre et la construction de superproducteurs qui peuvent produire de grandes quantités d'agents antimicrobiens très efficaces à la fois contre diverses gammes de microorganismes.

Plusieurs raisons nous amènent à penser que les substances peptidiques ribosomales antimicrobiennes sont considérées très attractives pour l'industrie alimentaire: 1.- sont des substances protéiques naturelles, non toxiques qui se dégradent à travers le système digestif en aminoacides; 2.- sont synthétisées au niveau du ribosome par transcription et translation, ainsi que leur structure et leurs propriétés sont dictées par la séquence génétique. Cela pourrait permettre que les structures des peptides soient manipulées par mutation génétique, porte ouverte pour des nouvelles approches dans la production des substances antimicrobiennes naturelles plus performantes.

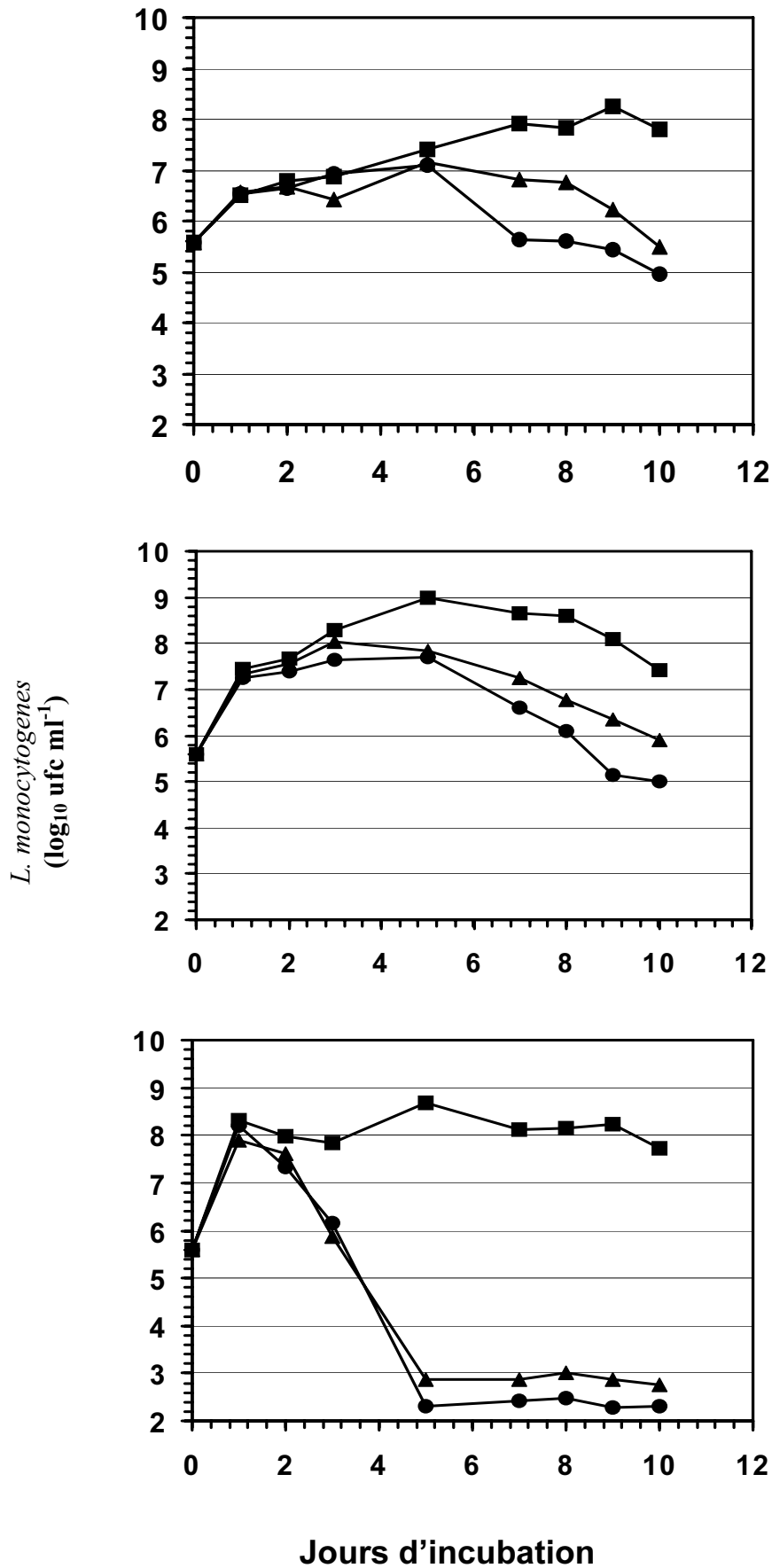


Fig. 1. Effets de la flore lactique sur *L. monocytogenes* cultivés dans un milieu liquide aux différentes températures d'incubation: (■) *L. monocytogenes*; (●) *L. monocytogenes* + *Lactobacillus sakei* CTC 372; (▲) *L. monocytogenes* + *Lactobacillus* CTC 711.

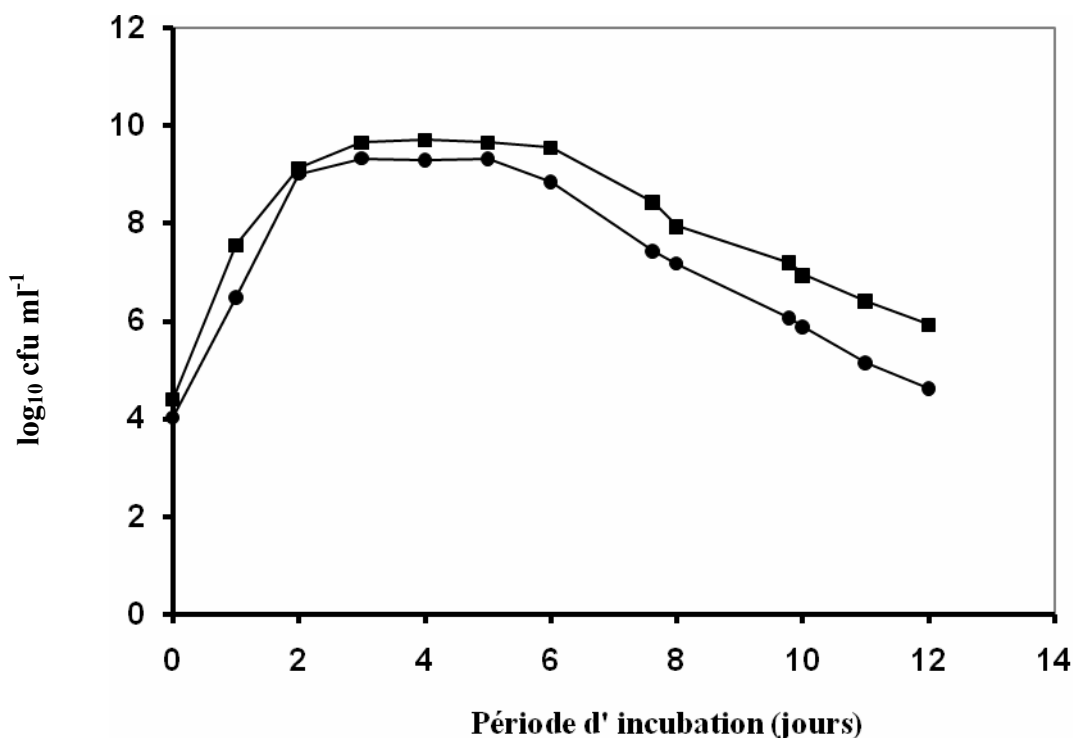


Fig. 2. Courbes de croissance de *Lactobacillus sakei* CTC 372 (●) et *Lactobacillus* CTC 711 (■) cultivées à 30°C.

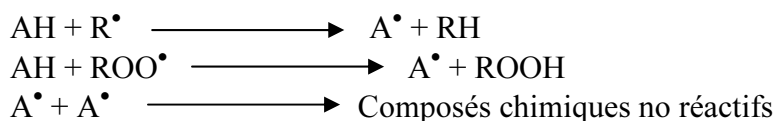
7- Les antioxydants

L'oxydation des lipides dans le muscle prend place juste après l'abattage de l'animal. Les changements biochimiques "*post-mortem*" sont les premiers phénomènes impliqués dans la réduction de la capacité antioxydante endogène du muscle. Et pour prévenir les réactions d'oxydation durant cette phase, il serait, donc nécessaire de mettre en place des systèmes qui peuvent maintenir ou améliorer l'équilibre antioxydant/prooxydant dans le muscle.

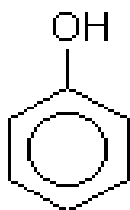
L'addition d'antioxydants aux produits agroalimentaires est aujourd'hui une pratique courante, souvent indispensable pour assurer la stabilité et permettre la conservation des produits finis. De nombreuses recherches avaient pour but la caractérisation de nouveaux antioxydants. Les équipes de recherche tentent également d'élucider les interactions entre les différents antioxydants qui, par synergie, peuvent décupler leur pouvoir. Plusieurs molécules se protègent entre elles ou agissent en complémentarité. D'autre part, malgré qu'il soit hors objectif de cette révision, il ne faut pas nier l'effet bénéfique qu'il peut apporter l'ingestion des antioxydants à travers l'alimentation quotidienne sur les aspects nutritionnels et sanitaires de notre organisme. Par ailleurs, l'usage des antioxydants synthétiques: hydroxyanisole butylé (BHA), hydroxytoluène butylé (BHT), terbutylhydroquinone (TBHQ) et propyl galate (PG) s'opposent aux nouvelles tendances de consommation, puisque actuellement se propose la production d'aliments chaque fois plus naturels et durables. Ceci est ainsi, depuis que certains auteurs ont soupçonné que le BHA comme le BHT possèdent une activité cancérogène.

7.1. Mécanismes antioxydants

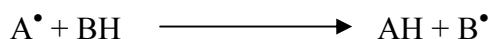
7.1.1. Les récepteurs des radicaux libres. Sont capables d'interrompre la chaîne radicalaire, en cédant un radical Hydrogène (H^\bullet) à un radical libre lipidique ou peroxy lipidique pour engendrer des composés chimiques stables:



Citons-les plus utilisés en agroalimentaire dont la majorité sont des composés phénoliques répondant à la formule générale:



7.1.2. Les piègeurs d' O_2 (acide ascorbique). Possèdent une action régénératrice des antioxydants dits primaires de type phénolique, récupérant ainsi leur activité antioxydante:



7.2- Antioxydants d'origine musculaire

7.2.1- Carnosine

Divers travaux de recherche avaient pour objectif l'étude de l'effet antioxydant de la carnosine (β -alanile-L-histidine). Plusieurs systèmes modèles ont été proposés à cet effet. La carnosine est dotée d'une capacité protectrice de la membrane cellulaire contre les dommages oxydatifs. Elle est capable d'inhiber l'oxydation lipidique "in vitro". Elle est aussi très effective dans l'inhibition du rancissement et la détérioration de la couleur des viandes hachées salées et congelées, en viandes hachées cuites réfrigérées et en viandes et produits carnés emballés sous atmosphères modifiées [55;56]. Certains auteurs considèrent que la carnosine possède la faculté d'éteindre les composés primaires et les substances chimiques volatiles issus lors de la peroxydation lipidique qui sont impliquées directement dans l'altération organoleptique des aliments. À travers le résidu *histidine* qu'elle renferme, la carnosine possède la faculté de céder une molécule H au radical libre. Elle possède aussi la propriété de neutraliser les effets de 1O_2 responsable de l'oxydation des aliments à travers la photooxydation. Récemment, il a été constaté que la carnosine commerciale est contaminée par un agent potentiellement réducteur: l'hydrazine [57]. Les mêmes auteurs qui ont découvert la contamination du dipeptide ont procédé à la réévaluation de l'activité antioxydante de la carnosine purifiée [58]. Les résultats de cette réévaluation ont été similaires à ceux obtenus avec la carnosine commerciale contaminée. Nous avons observé des comportements similaires concernant l'effet antioxydant de la carnosine (purifiée et commerciale) appliquée directement dans la formulation de certains produits carnés [56]. La carnosine pour sa nature chimique possède la capacité de maintenir son activité dans un intervalle de pH entre 5,1 et 7,1. Les traitements thermiques n'affectent pas son activité antioxydante [59]; par conséquent la carnosine pourrait exhiber un rôle considérable dans la charcuterie (produits cuits). Elle pourrait protéger la Vit. C contre les réactions d'oxydation grâce à la formation d'un complexe inerte avec le cuivre (Cu), et donc elle empêche l'effet

catalyseur sur les réactions d'oxydation exercé par ce métal de transition. Contrairement à tous ces rapports positifs concernant les effets antioxydants exercés par la carnosine, BEKHIT et ses collaborateurs [60] ont signalé que la carnosine pourrait avoir une activité prooxydante sur la viande. Cet effet prooxydant exercé par la carnosine serait dû principalement aux conditions expérimentales (pH et concentration de l'antioxydant dans le milieu).

7.2.2- Taurine

La taurine est un aminoacide abondant dans le cytosol musculaire. Elle est aussi considérée comme un composé naturel de certains aliments. De nombreux auteurs ont étudié son activité antioxydante dans divers systèmes [61]. La majorité des études expérimentales ont été réalisées sur des animaux au laboratoire. Il a été démontré que la taurine réduit les niveaux des substances finales de la peroxydation lipidique. Au sujet de la possibilité d'activité antioxydante de la taurine à l'échelle des aliments, il n'existe presque aucune information solide concernant cet effet. Notre groupe a eu l'idée de tester l'effet de la taurine appliquée directement sur les viandes. Les résultats ont montré que la taurine exerce un effet stabilisateur insignifiant sur les viandes hachées [62]. Contrairement à ses résultats, l'association de la taurine à la Vit. C a permis d'augmenter la durée de conservations des filets de viandes emballés sous une atmosphère de 70/20/30; O₂/CO₂/N₂ [63]. Cependant, d'autres travaux de recherches seront nécessaires concernant l'usage de la taurine dans les aliments.

7.2.3- Carnitine

La carnitine (*Beta-hydroxy-γ-trimethylaminobutyrate*) est un constituant naturel du plasma et des tissus des mammifères. Le tissu musculaire du boeuf en contient approximativement 1.86 μmol/g.

Ils sont presque inexistantes les travaux publiés sur l'activité antioxydante de la carnitine et ses esters appliqués directement aux aliments. DJENANE et ses collaborateurs [55] ont observé un effet antioxydant insignifiant de la carnitine appliquée sous forme d'une solution pulvérisable en surface de la viande; tandis que l'association de la carnitine avec la Vit. C n'a pas donné des résultats escomptés. Cette combinaison a permis même d'accélérer les vitesses d'altération du produit. Certains auteurs attribuent l'activité antioxydante de la carnitine "*in vitro*" par l'effet piège envers les radicaux libres et l'anéantissement des produits secondaires issus lors de l'oxydation lipidique. Certains auteurs ont rapporté que la carnitine et ses esters réduisent la production des radicaux libres hydroxyles (OH⁻) impliqués dans le système Fenton à travers la chélation de l'atome de fer (Fe) indispensable pour la production des radicaux libres à travers ce système. Les mêmes auteurs ont aussi indiqué que la carnitine inhibe l'oxydation de l'acide linoléique à travers l'inactivation de l'anion superoxyde (O₂^{•-}). À l'inverse de toutes ces observations antérieures, dans certaines conditions, la stimulation de l'oxydation lipidique par la carnitine pourrait être attribuée aux conditions expérimentales. Ainsi, l'usage de hautes concentrations de carnitine pourraient être négatives pour la stabilité du système.

7.2.4- Polyamines

Les polyamines (putrescine, spermidine et *spermine*) sont des constituants naturels de divers tissus animaux. Ils inhibent l'oxydation lipidique à travers l'inactivation des métaux de transition et des radicaux libres. ZHOU et DECKER [64;65] ont rapporté que la spermine et la spermidine exhibent une activité antioxydante similaire ou légèrement inférieure à celle de la carnosine. L'acide urique pour sa part inhibe aussi les réactions d'oxydation d'une manière similaire que les polyamines.

7.2.5- Minéraux et enzymes

Les minéraux tels le cuivre (Cu), le sélénium (Se), le magnésium (Mg) et le zinc (Zn) sont parfois des composés de quelques enzymes qui protègent les cellules contre l'oxydation, sont considérés par la plus part des auteurs comme des antioxydants biologiques. Les enzymes tels le glutathion peroxydase (GSH-Px), catalase et superoxyde dismutase (S.O.D.) protègent les lipides contre les réactions d'oxydation, en inactivant les composés réactifs de O₂: anion superoxyde (O₂⁻), peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), radicale hydroxyde (OH⁻).

GSH-Px est une enzyme qui contient du Se, elle catalyse la réduction des peroxydes lipidiques et d'hydrogène, faisant usage du glutathion à l'état réduit.

Les catalases peuvent inactiver H₂O₂ en le transformant en H₂O et O₂. ZHOU et DECKER [64] ont rapporté que le glutathion possède une activité piègeuse supérieure à celle de la carnosine; cependant, son effet antioxydant en comparaison avec la carnosine est de moindre degré; ceci est attribué à sa faible concentration dans le muscle squelettique.

RENERRE et ses collaborateurs [66] ont analysé l'effet *post mortem* de certaines enzymes dans des différents muscles. Ils ont observé que l'activité de SOD a été supérieure dans l'ail et le diaphragme; contrairement, l'activité de la catalase et de GSH-Px a été supérieure uniquement dans le diaphragme. Les mêmes auteurs ont indiqué que l'activité enzymatique supérieure dans les muscles moins stables aux changements de couleur n'est pas suffisante pour prévenir l'oxydation du pigment.

7.3- Antioxydants d'origine végétale

Des études récentes ont révélé que les consommateurs considèrent plus sûres et sains les produits élaborés à partir des ingrédients naturels, en rejetant ceux qui enregistrent dans leurs étiquettes des additives synthétiques. Cette situation justifie l'intérêt pour l'identification des nouvelles substances naturelles capables d'être utilisées comme des ingrédients alimentaires. L'activité inhibitrice des extraits d'herbes est attribuée fondamentalement à sa richesse en flavonoïdes. Sur la base de toutes les études réalisées, la majorité des chercheurs ont conseillé l'usage des extraits d'herbes en tant qu'additifs naturels.

7.3.1- Romarin

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*, L.) a été étudié par plusieurs chercheurs pour ses propriétés antioxydantes [67;63] et pour son utilisation comme un condiment alimentaire. Il a été déclaré efficace contre les réactions d'oxydation dans différentes huiles. Des résultats similaires ont été observés dans les viandes et produits carnés. Selon certains auteurs, même en présence des radiations prooxydantes (UV-A), l'extrait du romarin peut exhiber son pouvoir antioxydant [63].

Un grand nombre de composés phénoliques ont été isolés à partir des feuilles sèches du romarin.

Au sujet du mécanisme antioxydant de ses composés, il paraît que leurs propriétés antioxydantes sont attribuées à leur richesse en quinones isoprénolides, lesquels rompent la chaîne radicalaire en inactivant les radicaux oxygénés. Les composés phénoliques présents dans les extraits du romarin ont un comportement antioxydant primaire. Ils réagissent avec les radicaux libres pour les convertir en produits stables. Ces composés peuvent aussi séquestrer les ions métalliques. MASUDA et ses collaborateurs [68] ont rapporté que l'effet antioxydant du romarin est basé sur la propriété de céder un atome H au radical libre à partir de ses chaînes terminales. Par ailleurs, il a été démontré que des viandes traitées avec 0,1% d'extrait

du romarin ont la possibilité de maintenir leurs caractéristiques physico-chimiques durant l'entreposage et, par conséquent, acquérir une longue durée de conservation [69]. Des résultats similaires ont été observés dans certaines huiles traitées avec du romarin [70].

Les travaux que nous avons réalisés ont montré la grande capacité antioxydante de l'oléorésine du romarin appliquée sur la viande et produits carnés [30;62]. L'association de l'oléorésine à la Vit. C augmente considérablement la durée de conservation des viandes et produits carnés, probablement grâce aux effets synergiques entre les antioxydants.

L'extrait du romarin exhibe une meilleure activité antimicrobienne aux températures de réfrigération [71]. Cela nous fait penser l'intérêt qu'il pourrait avoir dans la préservation des aliments réfrigérés. Il est aussi thermorésistant, et par conséquent peut être très utile dans l'inhibition des saveurs indésirables durant la cuisson des viandes et postérieurement leur entreposage.

7.3.2- Bourrache

La majorité des spécialistes pensent que la bourrache (*Borago officinalis* L.) est originaire de l'Afrique du nord. Cette espèce végétale, connue depuis la plus haute antiquité, fût employée par les grecques, les romains et les arabes. La bourrache est très populaire actuellement dans la gastronomie espagnole (Aragon et Navarre).

WETTASINGHE et SHAHIDI sont les premiers auteurs qui ont étudié au laboratoire les effets de la farine de bourrache (*Borago officinalis* L.) et de son extrait, utilisant un système modèle. Dépendamment des concentrations, l'extrait de bourrache peut inhiber la formation des SR-TBA, hexanal et les substances volatiles. Le reste des études sur la bourrache ont été orienté principalement sur l'usage de son huile essentielle comme source d'acide α -linoléique.

L'extraction de l'huile de bourrache doit se faire conventionnellement, en employant des dissolvants organiques, fondamentalement l'hexane. Cependant, il est nécessaire que l'extraction se déroule dans des conditions contrôlées. La méthode d'extraction avec des fluides supercritiques se présente comme la meilleure alternative. Les résidus restants de l'extraction de l'huile de bourrache (farine) possèdent des quantités significatives en composés phénoliques. Les travaux réalisés sur la farine de bourrache ont montré un grand potentiel dans la formulation des aliments fonctionnels et produits esthétiques par leur excellente absorption des radiations UV [72].

SÁNCHEZ-ESCALANTE et ses collaborateurs [67] ont rapporté que durant les premiers jours d'entreposage des viandes, la farine dégraissée obtenue à partir des graines secs de bourrache a permis la réduction du niveau des SR-TBA de même degré que l'origan et le romarin. Cependant, à partir de 21 jours d'entreposage, les valeurs enregistrées étaient inférieures, presque imperceptible la quantité des SR-TBA à la fin de la période d'entreposage. Ces faits sont en étroite relation avec les propriétés de certains de ses constituants (acides rosmarinique, syringique et synapique) d'inactiver les radicaux libres. L'acide rosmarinique est le composé principal, de même qu'en romarin et en origan, lesquels sont déjà employés en industrie agroalimentaire. Cet effet antioxydant de la bourrache est attribué aussi à la donation d'H et aussi à la capacité de ses composés phénoliques d'éteindre les métaux de transition impliqués dans les réactions d'oxydation. Concernant l'effet antimicrobien de la bourrache, SANCHEZ-ESCALANTE et ses collaborateurs [67] ont observé que la farine de bourrache additionnée aux produits carnés emballés sous

atmosphères modifiées (70% O₂, 20% CO₂, 10% N₂) n'exerce aucune activité antimicrobienne sur la flore totale psychrotrophe.

7.3.3- Thé

De nombreux travaux scientifiques se sont attachés à démontrer le bien-fondé des vertus attribuées au thé vert (*Camellia sinensis*) par la tradition populaire. Il a été démontré que le thé vert possède des propriétés antioxydantes supérieures aux autres variétés de thé. Ainsi, les feuilles de thé vert sont celles qui contiennent des quantités majeures en catéchines (15-30%).

Les propriétés antioxydantes de certaines variétés de thé ont été amplement étudiées pour leurs composés phénoliques. Les feuilles de thé vert sont celles qui contiennent des quantités majeures en catéchines (15-30%). Il serait évident que le thé vert a une activité antioxydante supérieure aux autres variétés de thé. Le terme générique de "catéchines" englobe les polyphénols aux différents degrés antioxydant: a) *épicatéchines* (EC), b) *gallate d'épicatéchines* (ECG), c) *épigallocatechines* (EGC) et d) *gallate d'épigallocatechines* (EGCG), étant les EGCG et EGC les espèces chimiques les plus abondantes.

Divers travaux de recherche ont corroboré l'action antiradicalaire des catéchines. MCCARTHY et ses collaborateurs [73] ont rapporté que parmi l'ensemble des antioxydants testés au laboratoire, l'extrait de catéchine a montré une activité antioxydante supérieure. Les dernières recherches réalisées ont mis en évidence la capacité des catéchines du thé dans le retardement ou/et l'inhibition des réactions d'oxydation des viandes et produits carnés. Dans la même ligne de recherche, plusieurs auteurs ont rapporté que la supplémentation «*in vivo*» des bœufs, des volailles et de porc avec des catéchines augmente significativement la stabilité des viandes issues à partir de ces animaux. L'usage du thé vert suscite actuellement un grand intérêt par l'industrie agroalimentaire. De même que d'autres extraits végétaux, il est aussi important de prendre en compte les doses additionnées. Selon certains auteurs, les niveaux optimums pour les produits carnés réfrigérés et congelés sont situés entre 0,25% et 1%, respectivement.

7.3.4- La sauge

La sauge (*Salvia officinalis* L., famille des *labiées*.) est une plante originaire de la côte méditerranéenne, mais sa culture a connu une expansion à l'échelle mondiale grâce à ses usages multiples et propriétés bénéfiques. Les composés antioxydants de l'oléorésine de sauge ont été séparés par analyse de chromatographie liquide haute performance (HPLC). Les composés principaux ont été purifiés et identifiés (carnosol, acide carnosique, rosmadial, rosmanol, epirosmanol et méthyle carnosate) [69].

De nombreux auteurs ont étudié l'activité antioxydante de ces composés. Leur mécanisme antioxydant coïncide avec ceux exposés antérieurement pour les polyphénols existants dans l'extrait du romarin. L'acide carnosique est le composé qui présente une grande activité inhibitrice de la peroxydation lipidique.

L'usage d'extrait de sauge en viande et produits carnés est récent. Les derniers travaux réalisés ont montré son efficacité antioxydante sur certains aliments durant leur entreposage. En outre, sa thermostabilité, ouvre d'autres alternatives technologiques futures, surtout pour les produits traités avec de la chaleur et en charcuterie [73]. Cependant, la bibliographie offre des résultats contradictoires quant aux concentrations optimales à utiliser. Pour certains, la concentration optimale est située à 0,05% [73], pour d'autres, elle est proche de 2,5% [69].

7.3.5- Piments

Les différentes variétés du piment (*Capsicum annuum* L.) sont populaires grâce à leurs attributs sensoriels de couleur, d'arôme et du goût piquant. Le goût piquant est provoqué par la présence d'une série de composés connus sous le nom de capsaïcinoïdes. Ces dernières sont des molécules complexes qui peuvent agir comme des antioxydants grâce à leur structure phénolique. La consommation régulière des piments pourrait contribuer à un apport considérable à notre organisme en vitamines A, C et flavonoïdes. Les piments frais et ses graines contiennent des antioxydants phénoliques tels les flavonoïdes (principalement quercétine et lutéoline), acides phénoliques, capsaïcinoïdes, tocophérols et caroténoïdes.

NAG [74] a rapporté que les valeurs d'indice de peroxydes et des SR-TBA sont presque imperceptibles dans l'huile de lin en présence des extraits de capsaïcine. L'usage des piments en charcuterie peut constituer une alternative dans la stabilité oxydative des produits. D'autre part, SÁNCHEZ-ESCALANTE et ses collaborateurs [74] ont indiqué que la durée de conservation des produits carnés traités avec du piment rouge et de Cayenne était presque le double par rapport aux échantillons non traités. L'oxydation lipidique a été significativement inhibée par l'utilisation des différents types des piments. Les valeurs des SR-TBA tout au long de la durée d'entreposage n'ont pas dépassé 1 mg/kg malonaldéhyde (MA). L'inhibition des réactions d'oxydation a été encore plus marquante en présence du piment piquant riche en capsaïcinoïdes. Les résultats obtenus ont aussi montré que les concentrations en MetMb superficielle étaient inférieures chez les viandes traitées. Par ailleurs, il s'avère que l'utilisation des différentes variétés des piments en produits carnés constitue une nouvelle expectative dans l'usage des antioxydants naturels, non seulement dans le but de générer saveur et odeur, sinon, aussi comme des antioxydants.

7.3.6- Origan

Parmi les espèces de la famille des *Labiées*, l'origan (*Origanum vulgare* L.) et la sauge ont été largement étudiées pour l'activité antioxydante de leurs composés phénoliques qu'ils contiennent, principalement l'acide rosmarinique et le carvacrol. L'efficacité antioxydante de l'origan a été testée dans divers produits alimentaires, spécialement en huiles, en matières grasses comestibles, émulsions et produits carnés. Dans la viande et produits carnés, l'origan a été additionné afin de préserver le produit, tirant profit de ses propriétés antimicrobiennes attribuées à certains de ses composés: thymol et carvacrol.

SÁNCHEZ-ESCALANTE et ses collaborateurs [76] ont rapporté que l'usage d'extrait de l'origan à différentes concentrations a permis de retarder l'apparition des signes d'altérations organoleptiques des produits carnés emballés. Or, sa relative activité antimicrobienne exercée sur la flore aérobie psychrotrophe a été observée uniquement à une concentration de 500 mg/kg, laquelle est considérée dans l'intervalle limite des concentrations inhibitrices d'extrait de l'origan (500-1000 mg/kg).

7.3.7. Tomate

Les nutritionnistes ont toujours pensé que la tomate (*Lycopersicon esculentum*) était bonne parce qu'elle renferme des fibres et de la vitamine C. Mais récemment, on a découvert son lycopène, ce pigment qui non seulement lui donne sa belle couleur rouge foncé, mais possède aussi d'autres propriétés chimiques. C'était en 1873 que le lycopène fut isolé pour la première fois. Mais il faudra attendre jusqu'au 1950 pour que ses propriétés soient mises en évidence. Finalement, ce n'est que depuis une dizaine d'années que les chercheurs ont commencé à étudier activement le lycopène. Ce dernier fait partie de la famille des caroténoïdes, au même titre que le β -carotène. Le lycopène est également trouvé en pastèque,

goyaves et pamplemousses roses, et est responsable de la couleur rouge caractéristique associée à ces fruits. Il possède une structure chimique linéaire renfermant 13 doubles liaisons conjuguées. Une telle structure serait responsable de l'excellente capacité du lycopène à neutraliser les radicaux libres.

Des études récentes ont confirmé les bénéfices potentielles pour la santé d'une diète riche en tomate et ses dérivées [77;78], raison pour laquelle, durant ces dernières années sont apparues plusieurs variétés des produits de tomate riches en lycopène: PTRL (pulpe de tomate riche en lycopène) et ONT (oléorésine naturelle de tomate). Les chercheurs ont observé que le lycopène est un antioxydant liposoluble. En raison de sa structure chimique, il est l'anti-radical libre le plus efficace. Les résultats récents indiquent qu'il joue un rôle important dans la protection de notre organisme contre les maladies dégénératives.

Concernant le mécanisme antioxydant du lycopène, il est évident que son effet sur la peroxydation lipidique est le fruit d'une interaction avec les radicaux libres unie à l'action piège sur les ions Fe^{2+} [79].

De tous ces antécédents, notre groupe a eu l'idée de tester en viande deux produits dérivés de tomate contenant des concentrations différentes en lycopène: PTRL et ONT. Les résultats obtenus ont révélé que ONT inhibe la formation des SR-TBA. Les valeurs maximales atteintes étaient au dessous de 2 mg/kg de malonaldéhyde [76]. Cette valeur est considérée par certains auteurs la valeur maximale pour que le produit soit organoleptiquement acceptable. Tandis que LRTP a montré un effet inhibiteur sur la formation des SR-TBA et accumulation de MetMb durant l'entreposage seulement quand il a été combiné avec la Vit. C et l'origan.

Les recherches sur le lycopène ont été dirigées principalement vers son aspect nutritionnel. Cependant, au sujet de son utilisation dans les aliments, il reste beaucoup à faire, ainsi que dans un proche future serait nécessaire approfondir les connaissances sur les mécanismes pour lesquels le lycopène permet de préserver la qualité des aliments durant l'entreposage. En fin, il est intéressant de signaler que l'assimilation du lycopène se fait mieux en présence d'un support lipidique; il est donc recommandé un régime méditerranéen riche en l'huile d'olive avec les tomates. Et contrairement à la majorité des fruits et légumes, la tomate libère mieux son lycopène lorsqu'elle est cuite.

7.4- Antioxydants vitaminiques

Parmi les composés vitaminiques, certains possèdent une notable action réductrice ou antioxydante, tel l'acide ascorbique (vitamine C) et les tocophérols (vitamine E). La vitamine C (Vit. C) a été décrite par plusieurs auteurs pour ses activités contradictoires. En effet dans la majeure partie des cas, elle se comporte comme un antioxydant, mais en présence de certains composés chimiques, elle pourrait exhiber le rôle d'un prooxydant.

La vitamine E (Vit. E) pour sa part exerce souvent une action antioxydante. Pratiquement, elle est utilisée comme un supplément dans l'alimentation animale et postérieurement pour le maintien éventuel de la stabilité de la couleur des viandes fraîches durant leur entreposage au froid.

7.4.1- Vitamine C

Il existe plusieurs formes de Vit. C: acide ascorbique, ascorbate de sodium, ascorbate de calcium, ascorbate de potassium et palmitate d'ascorbyle. L'intérêt pour les ascorbates a suscité une grande importance en industries agroalimentaires. Divers auteurs ont signalé le rôle antioxydant de l'acide ascorbique et ses esters dans plusieurs systèmes alimentaires.

SÁNCHEZ-ESCALANTE et ses collaborateurs [67] puis MANCINI et ses collaborateurs [80] ont montré que la Vit. C peut permettre la stabilité chimique (couleur et odeur) des viandes et produits carnés; l'association de la Vit. C à certains antioxydants naturels peut engendrer des effets antioxydants supérieurs, ces résultats sont attribués probablement à l'effet synergique entre antioxydants. Divers mécanismes ont été proposés, parmi eux la régénération de l'antioxydant primaire, l'inactivation des prooxydants métalliques et la séquestration des radicaux oxygénés. D'autre part, il a été constaté que l'ascorbate pourrait agir de deux manières: activité prooxydante et antioxydante. Des faibles concentrations de Vit. C retardent l'oxydation de MbO₂, tandis que des hautes concentrations augmentent les vitesses d'oxydation des lipides qui par la suite favorisent l'oxydation de MbO₂ [81]. Des résultats contraires ont été rapportés par MIELCHE et BERTELSEN [82]. WONG et ses collaborateurs [83] ont constaté que l'acide ascorbique ne permis pas l'inhibition de la dégradation chimique des viandes hachées irradiées, contrairement, les mêmes auteurs ont constaté que ce traitement a provoqué une diminution de la durée de conservation du produit à cause de l'effet prooxydant de l'irradiation.

Le muscle contient de quantités considérables en ions métalliques. C'est pourquoi, l'incorporation de la Vit. C au muscle pourrait résulter en une rapide réaction de son oxydation dont l'intensité dépend du type du métal impliqué, de son état chimique, et de la présence des antioxydants; citons par exemple: le Cu²⁺ est presque 80 fois plus réactif que le Fe³⁺. BUETTNER [84] a observé que les ascorbates permettent la réduction des ions métalliques. De plus, ils ont la capacité de réagir avec l'oxygène singulet (¹O₂), favorisant ainsi l'inhibition de la formation des radicaux libres issus lors de la photooxydation. Contrairement, l'implication de l'ascorbate dans les réactions de Fenton pourrait stimuler l'oxydation, parce que l'ascorbate peut céder des électrons aux ions Fe³⁺ et Cu²⁺, formant ainsi des espèces potentiellement prooxydantes: Fe²⁺ et Cu⁺. HALLIWELL et GUTTERIDGE [85] ont rapporté que la présence d'O₂ et des métaux de transition, ensemble dans une solution pourrait induire des réactions rapides de l'oxydation de la Vit. C. Possiblement, c'est l'une des causes de l'effet prooxydant de la Vit. C. L'ascorbate est considéré l'antioxydant le plus important dans le liquide extracellulaire; son efficacité se résume dans sa capacité d'anéantir H₂O₂, O₂^{•-}, HO[•] et ROO[•]. Il régénère la Vit. E à sa forme native à travers la réduction du radical tocophéroxyl.

7.4.2. Vitamine E

Actuellement, une des meilleures méthodes existantes pour stabiliser les oxydations dans la viande est de réguler la concentration en Vit. E apportée par l'alimentation de l'anim. Une supplémentation alimentaire en Vit. E supérieure aux doses physiologiques permet de réduire l'oxydation des lipides ainsi que celle de la Mb responsable du brunissement superficiel de la viande. De nombreux auteurs ont attribué les effets de la stabilité des viandes

par la Vit. E à la réduction des SR-TBA issues lors des réactions d'oxydation lipidiques. Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer facilement au sein des AGPI de la membrane cellulaire (phospholipides) et des lipoprotéines où elle exhibe un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique. Contrairement au bovin, où les AGPI sont hydrogénés dans le rumen, chez les monogastriques comme la volaille ou le porc, le degré d'insaturation des lipides musculaires des animaux est un bon reflet des lipides trouvés dans leur alimentation. Il est bien admis qu'une alimentation riche en AGPI (oméga 3, oméga 6) permet de diminuer les risques de maladies cardiovasculaires voire de certains cancers. Toutefois, dans la viande, et plus encore dans les produits transformés, il est bien connu qu'une forte insaturation des lipides favorise les réactions d'oxydation. Cela conduit à des problèmes de rancissement de la matière grasse, liés à l'apparition de produits d'oxydation des lipides et d'autres composés, ainsi qu'à une altération de la Mb qui entraînent un refus de la viande emballée.

La façon de cibler un antioxydant liposoluble dans la phase lipidique de la viande: en l'administrant directement aux animaux. À l'inverse, il est généralement bien admis que l'addition seule de Vit. E ou en combinaison avec la Vit. C dans la viande donne d'assez mauvais résultats pour freiner les phénomènes d'oxydation [86]. Il pourrait même que l'action de la Vit. E dans les mêmes conditions expérimentales serait prooxydante. La Vit. E, pourtant très efficace dans les gras puisqu'elle est liposoluble, ne constitue pas un choix judicieux pour les milieux aqueux. Le mécanisme à travers lequel la vitamine E prévient l'oxydation de MbO₂ serait peut être attribué à son implication directe dans l'inhibition de l'oxydation lipidique.

Corroborant toutes ces données, la majorité des chercheurs sont d'accord sur l'effet positif de la Vit. E. Cependant, la nature et les mécanismes de cet effet positif reste encore à élucider, bien qu'il soit clair que l'effet de la Vit. E sur la couleur de la viande est clairement positif.

8. Synergie entre antioxydants

Les figures 3 et 4 reprennent respectivement, les résumés d'inhibitions (%) des réactions d'oxydation et extension de la durée de conservation (%) de la viande et produits carnés emballés sous atmosphères modifiées provoqués par les différents antioxydants naturels et leurs combinaisons.

Il a été souvent observé que l'action de deux antioxydants conjugués est supérieure à la somme de leur action séparée. Dans certains cas, on ignore les causes de ce phénomène, probablement parce que les mécanismes d'actions des antioxydants, encore de même type différent légèrement entre eux, par conséquent une éventuelle complémentation serait toujours possible. Dans d'autre cas, les raisons de synergie sont connues. Prenant l'exemple de la Vit. C et un dérivé phénolique, tel l'acide rosmarinique d'extrait du romarin: un acide comme l'ascorbique peut céder un radical hydrogène (H[•]) au radical libre antioxydant (A[•]) formé durant la réaction du romarin, régénérant l'activité de ce dernier (AH).

Les antioxydants phénoliques occupent une situation privilégiée; sont considérés des excellents donneurs d'électrons (e⁻) ou d'atome H, et en plus, leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables pour la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par O₂ moléculaire. DJENANE et ses collaborateurs [55] puis SANCHEZ-ESCALANTE et ses collaborateurs [67] ont rapporté que l'usage combiné de la Vit. C avec d'autres antioxydants constitue une méthode très efficace pour maintenir durant

de longues périodes les caractéristiques de qualité de la viande et produits carnés emballés sous atmosphères modifiées.

L'effet synergique entre les catéchines du thé et α -tocophérol a été justifié sur la base du mécanisme antioxydant des catéchines. Les catéchines agissent comme des attrapeurs des radicaux libres générés en milieu aqueux, empêchant que ceux-ci interfèrent avec les lipides membranaires. En outre, les catéchines sont considérées des agents réducteurs potentiels, sont capables donc, de régénérer les molécules α -tocophérols oxydées [87]. Les travaux ont aussi bien montré l'importance qu'il convient de donner au choix des antioxydants. Utiliser le bon antioxydant en fonction de la nature du produit à protéger et du système d'induction de l'oxydation conditionne l'efficacité de la protection qui sera obtenue.

L' α -tocophérol protège les AGPI en piégeant des radicaux libres de natures variées dans la phase lipidique. Il semble que l' α -tocophérol soit moins efficace face à certains types d'oxydation, notamment lorsque celle-ci est induite par des ions ferreux (Fe^{2+}). L'apparition possible d'un effet prooxydant à fortes doses empêche de pouvoir augmenter sans danger la concentration d' α -tocophérol pour pallier cette efficacité réduite. En revanche, l'addition de chélatants améliore l'efficacité de l' α -tocophérol. L'extrait de romarin contient des substances ayant à la fois un pouvoir chélatant et un pouvoir réducteur lui permettant de régénérer l' α -tocophérol. FANG et WADA [88] ont rapporté que l'oxydation de l'huile du poisson est provoquée par un apport d'ions Fe^{2+} . La période d'induction, mesurée par l'indice de peroxyde, était de 28 jours pour l'huile non protégée. Elle était de 42 et 48 jours pour des huiles ayant reçu respectivement l'extrait de romarin ou l' α -tocophérol. L'association des 2 antioxydants permet de retarder le temps d'induction à 58 jours. Le dosage de la teneur endogène en α -tocophérol a montré que sa diminution était retardée en présence d'extrait de romarin. Des analyses identiques ont été menées sur le muscle rouge du thon, riche en pigments. Leur oxydation a été évaluée par le dosage de SR-TBA et par l'analyse des acides gras polyinsaturés. Dans ce modèle, l'extrait de romarin s'est révélé plus protecteur que l' α -tocophérol, mais là encore, le mélange des 2 antioxydants a permis d'obtenir une protection plus complète qui s'est manifestée par une moindre dégradation minimale de Hb et Mb et un résultat plus faible pour le dosage au TBA après 18 jours d'entreposage. L'efficacité de l'extrait de romarin a été interprétée par les auteurs, à la fois par sa capacité à régénérer l' α -tocophérol et par son pouvoir chélatant vis-à-vis des ions Fe^{2+} . Chez les patients atteints du SIDA, leur système de défense antioxydant ne parvient plus au maintien de l'équilibre prooxydant/antioxydant. De futurs essais seront nécessaires pour évaluer l'action d'une combinaison d'antioxydants agissant en synergie pour atténuer les niveaux des hydroperoxydes et de MA chez ces patients.

De nombreux chercheurs ont rapporté que les extraits d'herbes ont des composés chimiques capables d'avoir une activité microbienne [89]. Les constituants des huiles essentielles sont actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons. La structure phénolique des huiles essentielles suggère que leur action sur la prolifération microbienne se fait à travers l'altération de la perméabilité membranaire des bactéries et interfèrent avec les systèmes de transport ionique, le transport des électrons et la production d'énergie. OUATTARA et ses collaborateurs [90] ont observé que les huiles essentielles de certaines plantes permettent l'inhibition des microorganismes communs de l'altération de la viande (Gram^+ et Gram^-). En générale, les bactéries Gram^+ sont plus sensibles aux huiles essentielles des plantes que les bactéries Gram^- .

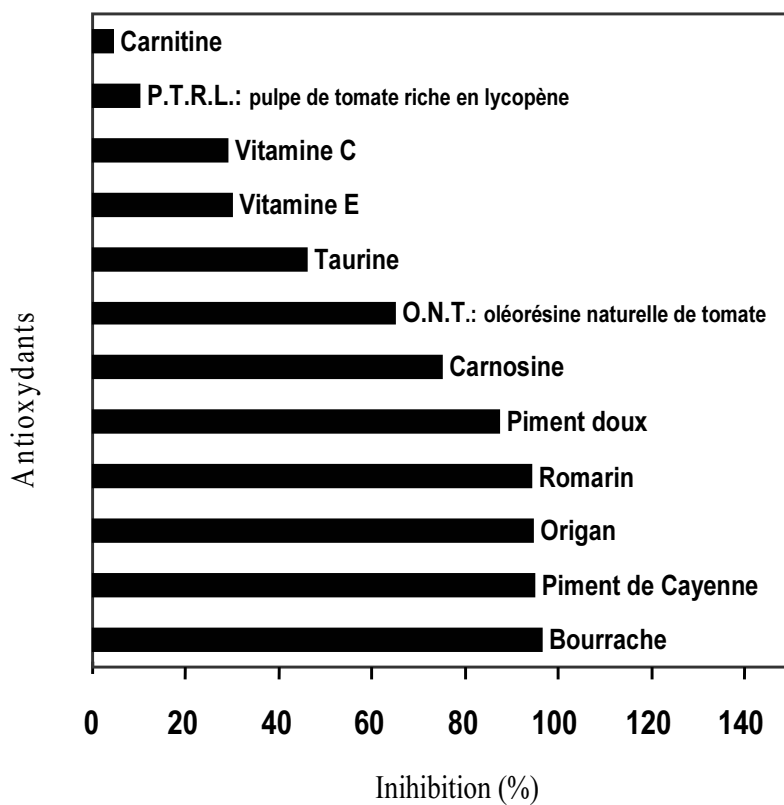


Fig. 3. Résumé des % d'inhibitions des réactions d'oxydations lipidiques (SR-TBA) de certains antioxydants naturels testés en viandes et produits carnés emballés sous atmosphères modifiées.

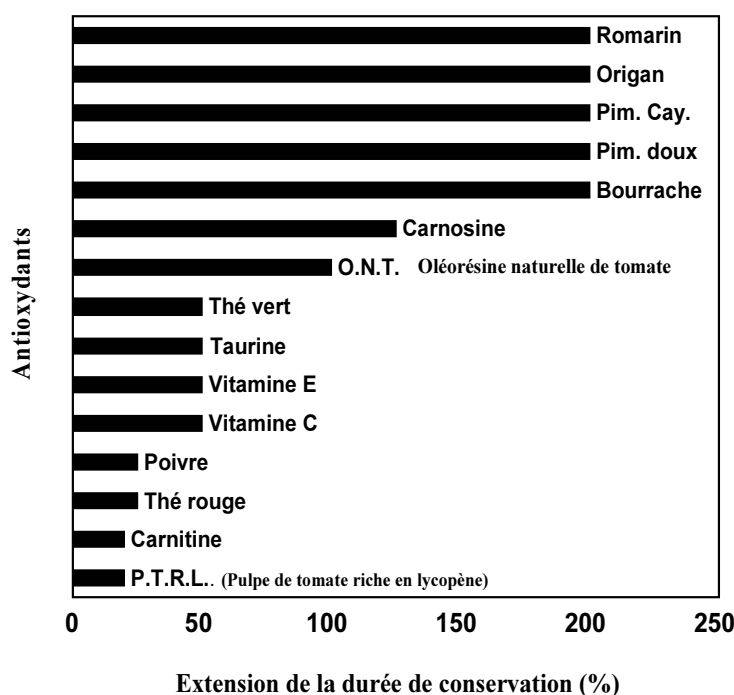


Fig. 4. Extension de la durée de conservation de la viande et produits carnés en présence de divers antioxydants naturels.

9. Systèmes combinés

La notion de systèmes combinés a été principalement développée pour contrer la présence et/ou la prolifération de pathogènes dans les aliments. DJENANE et ses collaborateurs [63] ont rapporté que les viandes traitées simultanément avec des antioxydants naturels (extrait du romarin, carnosine, Vit. C, etc.), emballées sous atmosphères modifiées et postérieurement exposées dans des vitrines frigorifiques illuminées par des tubes fluorescents standards ont montré une stabilité chimique (SR-TBA, MetMb) et microbiologique durant une longue période d'exposition par rapport aux viandes non traitées (**figures 5 et 6**). Des résultats similaires ont été observés dans le poisson (9). Il a été observé qu'après 28 jours d'entreposage, les filets de viande traitées avec de l'acide lactique et postérieurement emballés sous atmosphères modifiées (20-40% CO₂) ont enregistré un retard de 7 jours dans le développement microbien par rapport aux viandes non traitées. En outre, le traitement avec le romarin a retardé l'oxydation de la Mb et des lipides, favorisant ainsi l'extension de la durée de conservation de 10 jours en termes de couleur et odeur (30). Cette technique diminue la charge microbienne (bactéries lactiques, *Brochothrix thermosphacta* et *Pseudomonas* spp.) au dessous du seuil d'altération (<7log₁₀ cfu cm⁻²) et augmente la durée de conservation des produits sans altérer leurs propriétés sensorielles.

Malgré son efficacité démontrée, l'irradiation des aliments se heurte à la réticence du consommateur qui ne voit qu'une technique compliquée et abstraite faisant intervenir l'énergie nucléaire. Face à cette barrière psychologique, les fabricants d'aliments ont préféré opter pour d'autres techniques ce qui limite aujourd'hui l'utilisation de l'irradiation dans la décontamination de certains produits alimentaires. Si l'irradiation a démontré d'être une méthode efficace pour améliorer la qualité sanitaire et augmenter la durée de conservation des

viandes; pourquoi son introduction à l'échelle commerciale est lente? Sans nul doute, ils interviennent plusieurs facteurs: économiques, psychologiques et politiques. Dans certaines conditions, les traitements ionisants pourraient entraîner la formation de radicaux libres très réactifs pouvant provoquer l'oxydation de certains composés chimiques du produit le plus souvent responsables des qualités organoleptiques des aliments. Selon certains scientifiques, la stabilité des aliments serait meilleure si on associe des traitements ionisants, atmosphères modifiées et antioxydants.

De nombreux microorganismes psychrotrophes pathogènes Gram- (*Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella* et *Escherichia coli*) et d'altération Gram-constituent un problème particulier pour leur résistance inhérente à la majorité des bactériocines. Cette résistance est attribuée à la présence de lipopolysaccharide constituant de la membrane cellulaire, agissant comme une barrière efficace contre les macromolécules et les substances hydrophobes. Ainsi, l'usage d'un traitement préalable pour détruire cette barrière cellulaire pourrait permettre la bonne efficacité des bactériocines.

L'atome Fe constitue un élément essentiel dans le développement de plusieurs groupes de microorganismes, exception faite pour les bactéries lactiques. Ainsi, l'application de piègeurs de fer (sidérophore: substance produite par certains microorganismes) inhibe le développement de la flore compétitive. L'association de cette substance à des souches lactiques bactériocinogéniques pourrait intensifier l'effet inhibiteur des bactériocines. De plus, grâce à la structure moléculaire non tertiaire composée par des petites chaînes peptidiques, les bactériocines sont dotées d'une thermorésistance.

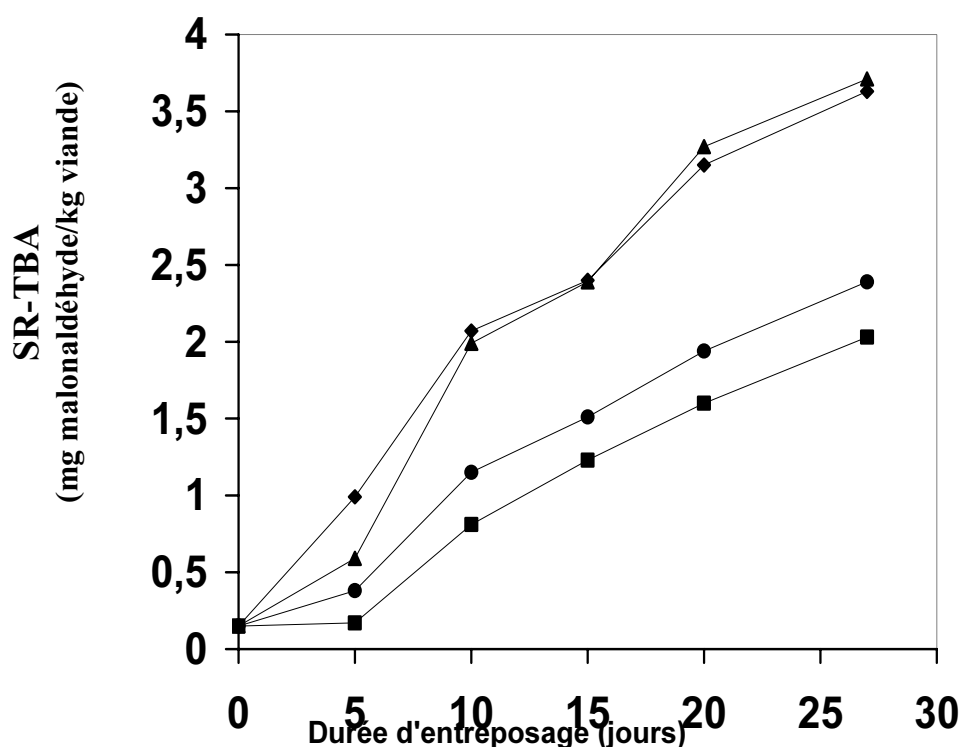


Fig. 5. Effet des antioxydants naturels sur les réactions d'oxydation lipidiques (SR-TBA) en présence des radiations lumineuses prooxydantes (UVA): (◆) Tube fluorescent standard (TFS); (■) TFS + Carnosine + Vit. C ; (▲) TFS + Taurine + Vit. C; (●) TFS + Romarin + Vit.C

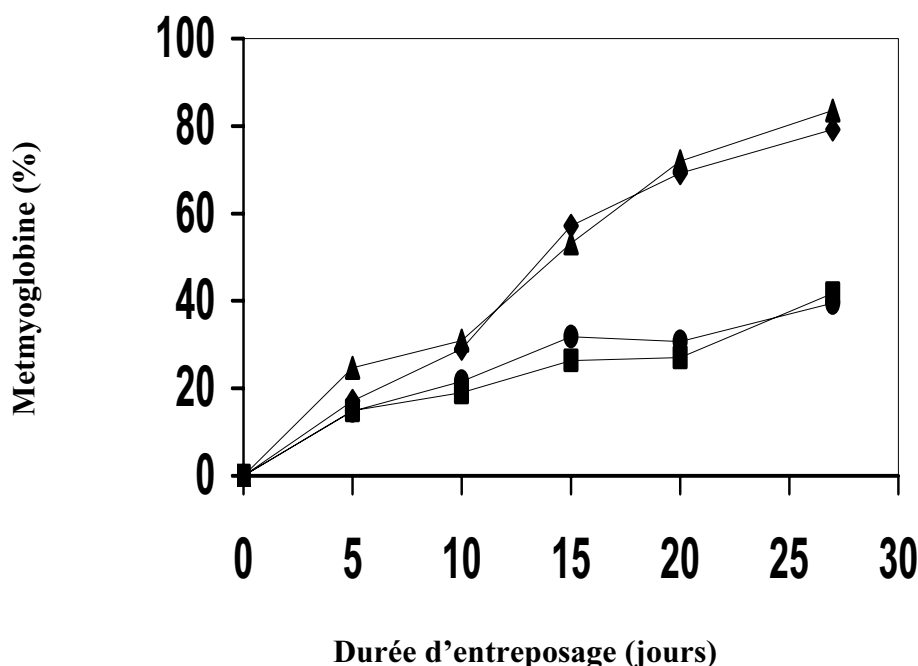


Fig. 6. Effet des antioxydants naturels sur les réactions d'oxydation pigmentaires (MetMb) en présence des radiations lumineuses prooxydantes (UVA): (◆) Tube fluorescent standard (TFS); (■) TFS + Carnosine + Vit.C; (▲) TFS+Taurine + Vit.C; (●) TFS + Romarin + Vit.C.

10. Projection future: emballage actif

Compte tenu de succès obtenus, nous avons développé un programme de recherche qui vise à mettre en place l'incorporation des antioxydants au matériel d'emballage. Ceci consiste d'appliquer à travers une technologie innovatrice, les progrès scientifiques atteints par l'usage simultané de l'emballage conventionnel et les agents qui agissent directement sur les caractéristiques et propriétés des aliments. Ainsi, ces emballages actifs possèdent l'avantage de protéger l'aliment contre les modifications indésirables de son aspect frais et sain sans la nécessité d'appliquer sur le produit aucun agent protecteur exogène.

L'emballage "actif" a connu un véritable progrès dans le domaine d'incorporation des agents antimicrobiens aux matériaux d'emballage. Cependant, dans l'actualité il y a un manque d'information au sujet d'incorporation des agents antioxydants. Notre groupe a eu l'idée de travailler sur la possibilité d'incorporer des agents antioxydants naturels aux matériaux d'emballages afin de prolonger la durée de conservation de viandes de différentes espèces ainsi que celle des fruits secs susceptibles de subir des réactions d'oxydation, souvent responsables de la détérioration de leur qualité sensorielle.

L'utilisation des systèmes naturels constitue l'alternative prometteuse qui permet aux industriels du secteur agroalimentaire de s'affranchir de l'étiquetage systématique relatif aux ingrédients synthétiques qui effraient le consommateur.

Bibliographie

01. AZEREDO H.M.C., FARIA J.A.F., DASILVA M.A.A.P., 2004. Minimization of peroxyde formation rate in soybean oil by antioxidant combinations. *Food Res. Int.*, **37**, 689-694.
02. MARTINEZ L., DJENANE D., CILLA I., BELTRAN J.A., RONCALES P., 2005. Effect of varying oxygen concentrations on the fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. *Food Chem.*, (in press)
03. DJENANE D., SÁNCHEZ-ESCALANTE A., BELTRÁN J.A., RONCALÉS P., 2001. Extension of the retail display life of fresh beef packaged in modified atmosphere by varying lighting conditions. *J. Food Sci.*, **66**, 181-6.
04. HOTCHKISS J.H., 1987. Microbiological hazards of controlled/modified atmosphere food packaging. Proceedings of the *Third International Conference on Controlled/Modified Atmosphere/Vacuum Packaging*. September, 16-18. The Hamilton. Itasca, Illinois, USA.
05. HUGAS M., PAGÉS F., GARRIGA M., MONFORT J.M., 1998. Application of the bacteriocinogenic *Lactobacillus sakei* CTC 494 to prevent growth of *L. monocytogenes* in fresh and cooked meat products packed with different atmospheres. *Food Microbiol.*, **15**, 639-650.
06. O'GRADY M.N., MONAHAN F.J., BRUNTON N.P., 2001. Oxymyoglobin oxidation and lipid oxidation in bovine muscle: Mechanistic studies. *J. Food Sci.*, **66**, 386-92.
07. DJENANE D., 2002. Utilización de sistemas antioxidantes y antimicrobianos para prolongar la vida útil de filetes de carne fresca (*Longissimus dorsi*) envasados en atmósferas modificadas. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Zaragoza, Zaragoza (Espagne).
08. PETTERSEN M.K., EIE T., NILSSON A., 2005. Oxidative stability of cream cheese stored in thermoformed trays as affected by packaging material, drawing depth and light. *Int. Dairy J.*, **15**, 355-362.
09. GIMENEZ B., RONCALES P., BELTRAN J.A. 2004. The effects of natural antioxidants and lighting conditions on the quality characteristics of gilt-head sea bream fillets (*Sparus aurata*) packaged in a modified atmosphere. *J. Sci. Food Agric.*, **84**, 1053-1060.
10. BERTELSEN G., SKIBSTED L.H., 1987. Photooxidation of oxymyoglobin. Wavelength dependence of quantum yields in relation to light discoloration of meat. *Meat Sci.*, **19**, 243-251.
11. DJENANE D., SÁNCHEZ-ESCALANTE A., BELTRÁN J.A., RONCALÉS P., 2003a. Extension of the shelf life of beef steaks packaged in modified atmosphere by treatment with rosemary and display under UV- free lighting. *Meat Sci.*, **64**, 417-426.
12. WOLD J.P., VEBERG A., NILSEN A., IANI V., JUZENAS P., MOAN J., 2005. The role of naturally occurring chlorophyll and porphyrins in light-induced oxidation of dairy products. A study based on fluorescence spectroscopy and sensory analysis. *Int. Dairy J.*, **15**, 343-353.
13. SANDMEIER D., ZIEGLER G., 1994. Influence of light on quality of packaged food. *Verpackungs-Rundschau*, **45**, 47-51.
14. DALY M.P., ACTON J.C., 2004. Effects of dark storage time and UV- filtered fluorescent lighting during display on color stability of high-oxygen modified atmosphere packaged ground beef. *J. Mus. Foods.*, **15**, 1-22.
15. ANDERSEN H.J., BERTELSEN G., SKIBSTED L.H., 1989. Colour stability of minced beef. Ultraviolet barrier in packaging material reduces light-induced discoloration of frozen products during display. *Meat Sci.*, **25**, 155-159.
16. LANARI M.C., SCHAEFER D.M., SCHELLER K.K. 1995. Dietary vitamin E supplementation and discoloration of pork bone and muscle following modified atmosphere packaging. *Meat Sci.*, **41**, 237-250.
17. JOHN L., CORNFORTH D., CARPENTER C.E., SØRHEIM O., PETTEE B.C., WHITTIER D.R., 2005. Color and thiobarbituric acid values of cooked top sirloin steaks packaged in

- modified atmospheres of 80% oxygen, or 0.4% carbon monoxide, or vacuum. *Meat Sci.*, **69**, 441-449.
18. MANCINI R.A., HUNT M.C., HACHMEISTER K.A., KROPF D.H., JOHNSON D.E., 2005. Exclusion of oxygen from modified atmosphere packages limits beef rib and lumbar vertebrae marrow discoloration during display and storage. *Meat Sci.*, **69**, 493-500.
 19. GILL C.O., 1988. The solubility of carbon dioxide in meat. *Meat Sci.* **22**, 65-71.
 20. ROCCULI P., ROMANI S., DALLA ROSA M., 2004. Evaluation of physico-chemical parameters of minimally processed apples packed in non-conventional modified atmosphere. *Food Res. Int.*, **37**, 329-335.
 21. WORLD HEALTH ORGANIZATION (W. H. O.) 1999. Environmental Health Criteria 213. Carbon Monoxide. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
 22. LUÑO M., RONCALÉS P., DJENANE D., BELTRÁN J.A., 2000. Beef shelf life in low O₂ and high CO₂ atmospheres containing different low CO concentrations. *Meat Sci.*, **55**, 413-419.
 23. FONTES P.R., GOMIDE L.A.M., RAMOS E.M., STRINGHETA P.C., PARREIRAS J.F.M., 2004. Color evaluation of carbon monoxide treated porcine blood. *Meat Sci.*, **68**, 507-513.
 24. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (I.S.O.), 1995. Determination of toxicity of a gas or gas mixture. ISO 10298: Genève.
 25. SØRHEIM O., AUNE T., NESBAKKEN T., 1997. Technological, hygienic and toxicological aspects of carbon monoxide used in modified atmosphere packaging of meat. *Tren. Food Sci. Technol.*, **8**, 307-312.
 26. JAYASINGH P., CORNFORTH D.P., CARPENTER C.E., WHITTIER D., 2001. Evaluation of carbon monoxide treatment in modified atmosphere packaging or vacuum packaging to increase color stability of fresh beef. *Meat Sci.*, **59**, 317-324.
 27. BREWER M.S., WU S., FIELD R.A., RAY B., 1994. Carbon monoxide effects on color and microbial counts of vacuum-packaged fresh beef steaks in refrigerated storage. *J. Food Qual.*, **17**, 231-44.
 28. EUROPEAN COMMISSION (2001). Opinion of the Scientific Committee on Food on the use of Carbon Monoxide as component of packaging gases in modified atmosphere packaging for fresh meat, 18/12/2001, Brussels, Belgium, http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index_en.html.
 29. SØRHEIM O., NISSEN H., NESBAKKEN T., 1999. The storage life of beef and pork packaged in an atmosphere with low carbon monoxide and high carbon dioxide. *Meat Sci.*, **52**, 157-164.
 30. DJENANE D., SÁNCHEZ-ESCALANTE A., BELTRÁN J.A., RONCALÉS P. (2003b). The shelf-life of beef steaks treated with DL-lactic acid and antioxidants and stored under modified atmospheres. *Food Microbiol.*, **20**, 1-7.
 31. GILL C.O., LANDERS C., 2004. Microbiological conditions of detained beef carcasses before and after removal of visible contamination. *Meat Sci.*, **66**, 335-342.
 32. ZEITOUN A.A.M., DEBEVERE J.M., 1992. Decontamination with lactic acid/sodium lactate buffer in combination with modified atmosphere packaging effects on the shelf life of fresh poultry. *Int. J. Food Microbiol.*, **16**, 89-98.
 33. GODDARD B.L., MIKEL W.B., CONNER D.E., JONES W.R., 1996. Use of organic acids to improve the chemical, physical, and microbial attributes of beef strip loins stored at -1°C for 112 days. *J. Food Prot.*, **59**, 849-853.
 34. HOTCHKISS J.H. (1988). Experimental approaches to determining the safety of food packaged in modified atmospheres. *Food Technol.*, **42**, 55-64.
 35. TAILLIEZ P., 2001. Mini-revue: les bactéries lactiques, ces êtres vivants apparus il y a près de 3 milliards d'années. *Le Lait*. **81**, 1-11.

36. BELK, K.E., 2001. Beef decontaminating technologies. Beef facts. Denver: National Cattlemen's Beef Association.
37. EKLUND T., 1989. Organic acids and esters. In: *mechanisms of action of food preservation procedures* (Ed. Gould, G.W). Elsevier Applied Science. pp161-200.
38. PIARD J.C., DESMAZEAUD M.J., 1991. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 1. Oxygen meatbolites and catabolism end-products. *Le Lait*. **71**, 525-541.
39. O'KEEFE T., HILL C., 2000. Bacteriocins. Potential in food preservation. In: *Encyclopedia of food microbiology*. (Robinson, Batt & Patel. Edt.) Academic press. pp. 183-191.
40. SEIFU E., BUYS E.M., DONKIN E.F., 2004. Quality aspects of gouda cheese made from goat milk preserved by the lactoperoxidase system. *Int. Dairy J.*, **14**, 581-589.
41. CONDON S., 1987. Responses of lactic acid bacteria to oxygen. *FEMS Microbiology Reviews*. **46**, 269-280.
42. AXELSSON L.T., CHUNG T.C., DOBROGOSZ W.J., LINDGREN S., 1989. Production of a broad spectrum antimicrobial substance by *Lactobacillus reuteri*. *Microb. Ecol. Health Disea.*, **2**, 131-136.
43. RICHARD J., 1996. Utilisation de bactériocines pour la production d'aliments plus sûrs: mythe ou réalité? *Lait*. **76**, 179-189.
44. CINTAS L.M., CASAUS M.P., HERRANZ C., NES I.F., HERNÁNDEZ P.E., 2001. Review: Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Food Sci. Technol. Intl.*, **7**, 281-305.
45. SABLON E., CONTERAS B., VANDAMME E., 2000. Antimicrobial peptides of lactic acid bacteria: Mode of action genetics and biosynthesis. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, **68**, 21-60.
46. JACK R.W., TAGG J.R., RAY, B., 1995. Bacteriocins of Gram positive bacteria. *Microbiol. Rev.*, **59**, 171-200.
47. DAESCHEL M.A., 1990. Application of bacteriocins in food systems. *Biotechnology and food Safety; Bills, D.D. y Kung, S (eds.)*. Butterworth- Heinemann, Stoneham, Massachussets, pp. 91-104.
48. DELVES-BROUGHTON J., 1990. Nisin and its uses as a food preservatives. *Food Technol.*, **44** (1), 100-117.
49. VANDENBERGH P.A., 1993. Lactic acid bacteria, their meatbolic products and interference with microbial growth. *FEMS Microbiol. Rev.*, **12**, 221-238.
50. HUGAS M., GARRIGA M., AYMERICH T., MONFORT J.M., 1993. Biochemical characterization of *lactobacilli* from dry fermented sausages. *Int. J.Food Microbiol.*, **18**, 107-113.
51. AYMERICH M.T., HUGAS M., MONFORT J.M., 1998. Review: Bacteriocinogenic lactic acid bacteria associated with meat products. *Food Sci. Technol. Intl.*, **4**, 141-158.
52. JACOBSEN T., BUDDE B.B., KOCH A.G., 2003. Application of *Leuconostoc carnosum* for biopreservation of cooked meat products. *J.Appl. Microbiol.*, **95**, 242-249.
53. DJENANE D., MARTÍNEZ L., SÁNCHEZ-ESCALANTE A., BLANCO D., YANGUELA J., BELTRÁN J.A., RONCALÉS P. 2006. Effect of Lactic acid bacteria on beef steak microbial flora stored under modified atmosphere and *Listeria monocytogenes* in broth cultures. *Food Sci. Technol. Intl.*, **12**, 287-295
54. BREDHOLT S., NESBAKKEN T., HOLCK, A. 2001. Industrial application of an antilisterial of *Lactobacillus sakei* as a protective culture and its effect on the sensory acceptability of cooked, sliced, vacuum- packaged meats. *Int. J. Food Microbiol.*, **66**, 191-196.
55. DJENANE D., MARTÍNEZ L., SÁNCHEZ-ESCALANTE A., BELTRÁN J.A., RONCALÉS P. 2004. Antioxidant effect of carnosine and carnitine in fresh beef steaks stored under modified atmosphere. *Food Chem.*, **85**, 453-459.

56. SÁNCHEZ-ESCALANTE A., DJENANE D., TORRESCANO G., BELTRÁN J.A., RONCALÉS P., 2003b. Evaluation of the antioxidant ability of hydrazine-purified and untreated commercial carnosine in beef patties. *Meat Sci.*, **64**, 59-67.
57. ZHOU S., DICKINSON C., YANG L., DECKER E.A., 1998. Identification of hidrazine in comercial preparations of carnosine and its influence on carnosine's antioxidative properties. *Anal. Biochem.*, **261**, 79-86.
58. DECKER E.A., LIVISAY S.A., ZHOU S., 2000. A re-evaluation of the antioxidant activity of purified carnosine. *Biochemistry (Moscow)*; **65**, 766-770.
59. DECKER E.A., FARAJI H., 1990. Inhibition of lipid oxidation by carnosine. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **67**, 650-652.
60. BEKHIT A.E.K., GEESINK G.H., ILIAN M.A., MORTON J.D., SEDCOLE J.R., BICKERSTAFFE R., 2004. Pro-oxidant activities of carnosine, rutin and quercetin in a beef model system and their effects on the metmyoglobin reducing activity. *Eur. Food Res. Technol.*, **218**, 507-514.
61. KEYS S.A., ZIMMERMAN W.F., 1999. Antioxidant activity of retinol, glutathione, and taurine in bovine photoreceptor cell membranes. *Experi. Eye Res.*, **68**, 693-702.
62. SÁNCHEZ-ESCALANTE A., DJENANE D., TORRESCANO G., BELTRÁN J.A., RONCALÉS P., 2001. The effects of ascorbic acid, taurine, carnosine and rosemary powder on colour and lipid stability of beef patties packaged in modified atmosphere. *Meat Sci.*, **58**, 421-429.
63. DJENANE D., SÁNCHEZ-ESCALANTE A., BELTRÁN J.A., RONCALÉS P., 2002. Ability of α -tocopherol, taurine and rosemary, in combination with vitamin C, to increase the oxidative stability of beef steaks displayed in modified atmosphere. *Food Chem.*, **76**, 407-415.
64. ZHOU S., DECKER E.A., 1999a. Ability of carnosine and other skeletal muscle components to quench unsaturated aldehydic lipid oxidation products. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 51-55.
65. ZHOU S., DECKER E.A., 1999b. Ability of amino acids, dipeptides, polyamines, and sulfhydryls to quench hexanal, a saturated aldehydic lipid oxidation product. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 1932-1936.
66. RENERRE M., DUMONT F., GATELLIER, P.H., 1996. Antioxidant enzyme activities in beef in relation to oxidation of lipid and myoglobin. *Meat Sci.*, **43**, 111-121.
67. SÁNCHEZ-ESCALANTE A., DJENANE D., TORRESCANO G., BELTRÁN J.A., RONCALÉS P., 2003a. Antioxidant action of borage, rosemary, oregano and ascorbic acid in beef patties packaged in modified atmosphere. *J. Food Sci.*, **68**, 339-344.
68. MASUDA T., INABA Y., TAKEDA Y., 2001. Antioxidant mechanism of carnosic acid: structural identification of two oxidation products. *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 5560-5565.
69. AABY K., SKRVTEN A.G., SKREDE G., MIELNIK M., 2001. Antioxidant effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis*), sage (*Salvia officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare*) extracts during frozen storage of turkey meat. Paper 30C.; IFT Annual Meeting Proceedings. New Orleans, LA, USA.
70. BASAGA H., TEKKAYA C., ACIKEL F., 1997. Antioxidative and free radical scavenging properties of rosemary extract. *Leben. Wiss. Technol.*, **30**, 105-108.
71. DEL CAMPO J., AMIOT M.J., NGUYEN T.C., 2000. Antimicrobial effect of rosemary extracts. *J. Food Prot.*, **63**, 1359-1368.
72. WETTASINGHE M., SHAHIDI F., AMAROWICZ R., ABOU-ZAID M.M., 2001. Phenolic acids in defatted seeds of borage (*Borago officinalis* L.). *Food Chem.*, **75**, 49-56.
73. MCCARTHY T.L., KERRY J.P., KERRY J.F., LYNCH P.B., BUCKLEY D.J., 2001. Evaluation of the antioxidant potential of natural food/plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties. *Meat Sci.*, **57**, 45-52.
74. NAG A., 2000. Stabilization of flaxseed oil with *capsicum* antioxidant. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **77**, 799-800.

75. SÁNCHEZ-ESCALANTE A., TORRESCANO G., DJENANE D., BELTRÁN J.A., RONCALÉS P., 2003c. Stabilization of colour and odour in beef patties by using lycopene-rich tomato and peppers as a source of antioxidants. *J. Sci. Food Agric.*, **83**, 187-194.
76. SÁNCHEZ-ESCALANTE A., DJENANE D., TORRESCANO G., BELTRÁN J.A., RONCALÉS P., 2003d. Combined effect of modified atmosphere packaging and addition of lycopene rich tomato pulp, oregano and ascorbic acid and their mixtures on the stability of beef patties. *Food Sci. Technol. Int.*, **9**, 77-84.
77. AGARWAL S., RAO A.V., 1998. Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: a human dietary intervention study. *Lipids*, **33**, 381-384.
78. DJURIC Z., POWELL L.C., 2001. Antioxidant capacity of lycopene-containing foods. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **52**, 143-149.
79. KLEBANOV G.I., KAPITANOV A.B., TESELKIN Y.O., BABENKOVA I.V., ZHAMBALOVA B.A., LYUBITSKY 1998. The antioxidant properties of lycopene. *Membr. Cell. Biol.*, **12**, 287-300.
80. MANCINI R.A., HUNT M.C., HACHMEISTER K.A., KROPF D.H., JOHNSON D.E., 2004. Ascorbic acid minimizes lumbar vertebrae discoloration. *Meat Sci.*, **68**, 339-345.
81. YIN M.C., FAUSTMAN C., RIESEN J.W., WILLIAMS S.N., 1993. α -tocopherol and ascorbate delay oxymyoglobin and phospholipid oxidation in vitro. *J. Food Sci.*, **58**, 1273-1281.
82. MIELCHE M.M., BERTELSEN G., 1994. Approaches to the prevention of warmed-over flavour. *Tren. Food Sci. Technol.*, **5**, 322-327.
83. WONG P.Y.Y., WIJEWICKREME A.N., KITTS D.D., 2005. Fat content and ascorbic acid infusion influence microbial and physicochemical qualities of electron beam irradiated beef patties. *Food Chem.*, **89**, 93-102.
84. BUETTNER G.R., 1988. In the absence of catalytic metals ascorbate does not autoxidize at pH7: ascorbate as a test for catalytic metals. *J. Biochem. Biophys. Meth.*, **16**, 27-40.
85. HALLIWELL B., GUTTERIDGE J.M.C., 1985. Protection against oxygen radicals in biological systems: the superoxide theory of oxygen toxicity. In: Free radicals in biology and medicine, 67-138. Clarendon Press, Oxford, UK.
86. DJENANE D., BLANCO D., YANGÜELA J., BELTRÁN J.A., RONCALÉS P., 2006. Preservation by lactic acid bacteria of beef steaks stored in CO₂-rich atmospheres and their inhibition of *Listeria monocytogenes*. *Sci. Alim.*, **26**(1), 37-73.
87. ZHU Q.Y., HUANG Y., TSANG D., CHEN Z.Y., 1999. Regeneration of α -Tocopherol in Human Low-Density Lipoprotein by Green Tea Catechin. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 2020-2025.
88. FANG X., WADA S., 1993. Enhancing the antioxidant effect of α -tocopherol with rosemary in inhibiting catalyzed oxidation caused by Fe²⁺ and hemoprotein. *Food Res. Int.*, **26**, 405-411.
89. DJENANE D., RONCALÉS P., 2005. Les réactions chimiques et photochimiques dans la viande. *J. Soc. Alg. Chem.*, **15** (1), 1-24.