

République Algérienne Démocratique  
et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et de la Recherche Scientifique  
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
المدرسة الوطنية العليا للطب



## THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-Sciences  
En Sciences Vétérinaires

### Thème :

**Recherche et identification des substances chimiques  
dans les produits de pêche**

Présentée par : **LAHRECHE Talal**

Soutenue le 29/01/2020, devant les membres du jury :

Présidente : **Pr. AIT OUDHIA K.** Professeur Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger  
Rapporteur : **Pr. HAMDI T. M.** Professeur Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger  
Examineur : **Pr. ELGROUD R.** Professeur Université de Constantine I  
Examineur : **Dr. BOUAYAD L.** M. C. A Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger  
Examineur : **Dr. BENSID A.** M. C. A Université de Djelfa  
Examineur : **Dr. HOUICHER A.** M. C. A Université de Laghouat

**Année universitaire : 2019/2020**



République Algérienne Démocratique  
et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et de la Recherche Scientifique  
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
المدرسة الوطنية العليا للطب



## THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-Sciences  
En Sciences Vétérinaires

### Thème :

**Recherche et identification des substances chimiques  
dans les produits de pêche**

Présentée par : **LAHRECHE Talal**

Soutenue le 29/01/2020, devant les membres du jury :

Présidente : **Pr. AIT OUDHIA K.** Professeur Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger  
Rapporteur : **Pr. HAMDI T. M.** Professeur Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger  
Examineur : **Pr. ELGROUD R.** Professeur Université de Constantine I  
Examineur : **Dr. BOUAYAD L.** M. C. A Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger  
Examineur : **Dr. BENSID A.** M. C. A Université de Djelfa  
Examineur : **Dr. HOUICHER A.** M. C. A Université de Laghouat

**Année universitaire : 2019/2020**

## REMERCIEMENTS

*Au terme de ce travail, je tiens à exprimer tout d'abord toute ma reconnaissance et à remercier très chaleureusement mon directeur de thèse : le Professeur HAMDI Taïa-Mossadak pour son encadrement consciencieux, sa rigueur scientifique, sa disponibilité, son soutien, ses encouragements, ses conseils pertinents et surtout pour sa patience durant ces années d'études.*

*Je remercie sincèrement le Professeur AIT OUDHIA Khatima, le Professeur EL-GROUD Rachid, le Docteur BOUAYAD Leïla, le Docteur BENSID Abdelkader et le Docteur HOUICHER Abderrahmane pour avoir accepté d'évaluer ce travail de recherche.*

*Mes vifs remerciements vont également au Docteur B. Abdelkader et au Docteur H. Abderrahmane, pour leurs dynamismes, leurs motivations et pour avoir initié une collaboration avec le département de technologie des industries des produits de la mer de l'Université de Cukurova - Adana, Turquie, ce qui fut pour moi une expérience très riche.*

*Cette étude n'aurait pas été possible sans la collaboration mise en place avec l'équipe du laboratoire de biotechnologie du département de technologie des industries des produits de la mer (Adana, Turquie). Je tiens donc à remercier très sincèrement le Professeur Fatih OZOGUL pour m'avoir accueillie dans son laboratoire et fait bénéficier de ses compétences scientifiques. Je remercie également Yesim OZOGUL, Yilmaz UÇAR, Mustafa DURMUS, Ali Riza KOSKER et Elif Tuğce AKSUN pour leurs aides et leurs collaborations.*

*Je remercie également mes collègues et amis pour leur soutien, leur enthousiasme et leurs encouragements : ACHÉK Rachid, CHÉTATHA Sofiane, BELA-TRA Madani et BOUABDELLI Tahar.*

*Un grand merci à ma famille pour sa présence constante à mes côtés et son soutien durant les moments les plus difficiles de ma vie.*

*Enfin, je tiens à remercier vivement et très sincèrement toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

## DEDICACES

*A ma Mère, pour sa gentillesse, son affection, sa douceur, sa tendresse, ses encouragements éternels et ses sacrifices. Sans elle rien n'aurait été possible.*

*A mon Père pour l'ampleur des sacrifices consentis pour mon éducation et mon instruction.*

*A ma Femme, pour son attachement, ses chaleureux encouragements, sa vive compassion et surtout pour sa compréhension et sa patience.*

*A mes adorables Enfants, Narimène et Adam, à qui je souhaite plein de succès.*

*A mes Sœurs et Frères, Nadjet, Manel, Amine, Imad et Nasser, pour leurs gentillesse, leurs disponibilités et leurs encouragements.*

*A mes chers Neveux, Moussa, Aymen, Taïa et Zakî.*

*A mes Belle nièces, Isma, Nanoo, Aridj et Rana.*

*A mes Beaux-parents.*

*A mes Belles sœurs et mes Beaux-frères.*

*A mes Amis.*

*A tous les Miens.*

## LISTE DES ABREVIATIONS

ABVT : Azote basique volatil total  
ADP : Adénosine Di-Phosphate  
AGL : Acides gras libres  
AGPI : Acides gras polyinsaturés  
AGS : Acides gras saturés  
AMP : Adénosine Mono-Phosphate  
ANP : Azote Non Protéique  
AOAC: Association of Official Analytical Chemists  
ATB : Acide thiobarbiturique  
ATP : Adénosine Tri-phosphate  
 $A_w$  : Activité de l'eau  
BHA : butylhydroxyanisole  
BHT : Butylhydroxytoluène (E321)  
CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance  
DHA : Docosahexaénoïque  
DMA : Diméthylamine  
DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle  
EPA : Eicosapentaénoïque  
FAO: Food and Agriculture Organization  
FDA: Food and Drug Administration  
g: gramme  
GAE : Equivalent Acide Gallique  
h : heure  
Hx : Hypoxanthine  
i.e. : *id est*  
IC<sub>50</sub> : Concentration Inhibitrice de 50 %  
IP : Indice de peroxyde  
ISO : International Standard Organisation  
J : Jour

Kg : Kilogramme

M : Molarité (mol/L)

MDA : Malondialdehyde

mEq : milliéquivalents

mg : milligramme

ml : millilitre

N : Normalité (mol/L)

nm : nanomètre

OTMA : Oxyde de triméthylamine

P : Poids

$p$  : probabilité

pH : Potentiel hydrogène

QE : Equivalent Quercétine

R : rendement

SPSS : Statistical Package for Social Sciences

SR-ATB : Substances réactives à l'acide thiobarbiturique

SV : Sous Vide

T° : Température

TMA : Triméthylamine

UFC : Unités Formant Colonies

UV : Ultra-violet

V : Volume

°C : Degré Celsius

µg : microgramme

µl : Microlitre

## LISTE DES TABLEAUX

	<i>Page</i>
<b>Tableau 1.</b> Composition chimique comparative de muscle de poissons gras, semi-gras et maigres .....	<b>5</b>
<b>Tableau 2.</b> Répartition des différents groupes de protéines dans le muscle du poisson .....	<b>7</b>
<b>Tableau 3.</b> Vitamines et sels minéraux contenus dans le muscle de quelques espèces de poissons .....	<b>10</b>
<b>Tableau 4.</b> Microflore dominante et bactéries d'altération spécifiques intervenant dans l'altération du poisson frais au cours de l'entreposage.....	<b>15</b>
<b>Tableau 5.</b> Effet de l'emballage sur la durée de conservation du poisson et des produits carnés réfrigérés .....	<b>29</b>
<b>Tableau 6.</b> Méthode de l'index de qualité pour les filets de thon frégate.....	<b>56</b>
<b>Tableau 7.</b> Score d'évaluation sensorielle pour les filets cuits .....	<b>57</b>
<b>Tableau 8.</b> Effet de l'application de l'extrait d'origan sur le pH, ABVT des muscles blanc et rouge des filets de thon frégate conservés dans des conditions sous vides à température de réfrigération (3±1 °C).....	<b>66</b>
<b>Tableau 9.</b> Effet de l'application de l'extrait d'origan sur l'indice peroxyde et l'acide thiobarbiturique des muscles blanc et rouge des filets de thon frégate conservés dans des conditions sous vides à température de réfrigération (3±1 °C) .....	<b>70</b>
<b>Tableau 10.</b> Effet de l'application de l'extrait d'origan sur l'évolution des acides gras libres (AGL) des muscles blanc et rouge des filets de thon frégate conservés dans des conditions sous vides à température de réfrigération (3±1 °C) .....	<b>74</b>

<b>Tableau 11.</b> Effet de l'application de l'extrait d'origan sur les bactéries aérobies mésophiles et les bactéries psychrotrophes dans les muscles blanc et rouge des filets de thon frégate conservés dans des conditions sous vides à température de réfrigération ( $3\pm 1$ °C) .....	<b>75</b>
<b>Tableau 12.</b> Effet de l'application de l'extrait d'origan sur dureté et la souplesse des muscles blanc et rouge des filets de thon frégate conservés dans des conditions sous vides à température de réfrigération ( $3\pm 1$ °C).....	<b>78</b>
<b>Tableau 13.</b> Effet de l'application de l'extrait d'origan sur adhésivité et la mâchabilité des muscles blanc et rouge des filets de thon frégate conservés dans des conditions sous vides à température de réfrigération ( $3\pm 1$ °C) .....	<b>79</b>
<b>Tableau 14.</b> Effet de l'application de l'extrait d'origan sur la résilience des muscles blanc et rouge des filets de thon frégate conservés dans des conditions sous vides à température de réfrigération ( $3\pm 1$ °C) .....	<b>80</b>

## LISTE DES FIGURES

	<i>Page</i>
<b>Figure 1.</b> Anatomie du muscle de poisson .....	<b>4</b>
<b>Figure 2.</b> Variation saisonnière de la composition chimique des filets de maquereau .....	<b>7</b>
<b>Figure 3.</b> Evolution naturelle du muscle de poisson après la capture .....	<b>12</b>
<b>Figure 4.</b> Sites d'attaques des phospholipases A2 et B .....	<b>18</b>
<b>Figure 5.</b> L'oxydation des lipides .....	<b>20</b>
<b>Figure 6.</b> Mécanisme d'initiation de la peroxydation des lipides par l'activité lipoxygénasique .....	<b>23</b>
<b>Figure 7.</b> Schématisation des réactions de Fenton et d'Haber-Weiss dans la genèse des radicaux libres .....	<b>24</b>
<b>Figure 8.</b> Evolution schématique de l'auto-oxydation des acides gras insaturés au cours d temps .....	<b>25</b>
<b>Figure 9.</b> Formule chimique brute d'une fonction phénol .....	<b>31</b>
<b>Figure 10.</b> Effets biologiques des polyphénols .....	<b>33</b>
<b>Figure 11.</b> Différentes étapes de l'étude expérimentale .....	<b>41</b>
<b>Figure 12.</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique .....	<b>45</b>
<b>Figure 13.</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine .....	<b>46</b>
<b>Figure 14.</b> Pourcentage d'inhibition de DPPH .....	<b>48</b>
<b>Figure 15.</b> Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations utilisées .....	<b>52</b>
<b>Figure 16.</b> Concentrations de chaque substrat lors de l'inhibition de 50 % de l'activité DPPH .....	<b>52</b>

<b>Figure 17.</b> Évaluation sensorielle des chairs crues rouge (R) et blanche (B) de filet de thon frégate au cours du stockage réfrigéré sous emballage sous vide .....	<b>63</b>
<b>Figure 18.</b> Évaluation sensorielle des chairs cuites rouges (R) et blanches (B) de filet de thon frégate au cours du stockage réfrigéré sous emballage sous vide .....	<b>65</b>

## Résumé

L'objectif de ce travail de thèse s'inscrit d'une part dans le cadre de la connaissance et la valorisation des plantes médicinales et aromatiques en Algérie et d'autre part à l'amélioration de la durée de conservation des filets de thon frégate (*Auxis thazard*).

La première partie de cette étude porte sur l'extraction par macération des composés phénoliques à partir de broyats d'origan, sur le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes et sur l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait d'origan. Les résultats obtenus ont permis de constater que l'extrait utilisé pourrait constituer une alternative prometteuse pour réduire l'auto-oxydation des produits de la pêche.

Dans la seconde partie, les effets combinés de l'extrait d'origan (0.5 %) et du conditionnement sous vide sur les paramètres de qualité des muscles rouges et blancs du thon frégate conservés sous forme de filet intact dans des conditions de réfrigération ( $3\pm 1$  °C) ont été évalués. Des analyses sensorielles, chimiques, microbiologiques et texturales ont été effectuées dans chacun des muscles rouge et blanc des filets de thon frégate pendant le stockage. Plusieurs indices de qualité étaient plus élevés dans le muscle rouge que dans le muscle blanc. Les paramètres de qualité des deux muscles présentaient la même tendance, et étaient significativement affectés par le temps de stockage ainsi que par la présence d'extrait de plante dans l'emballage sous vide. L'évaluation sensorielle a montré que les deux muscles du groupe témoin avaient une durée de conservation de 12 jours, tandis que ceux stockés en combinaison avec l'extrait d'origan avaient une durée de conservation de 18 jours. Selon l'indice de peroxyde, le muscle blanc était plus exposé à l'oxydation des lipides que le muscle rouge. L'emballage sous vide à lui seul a suffi de retarder l'oxydation des lipides des filets de thon frégate, en particulier dans le muscle rouge. Toutefois, il n'a pas pu éviter la détérioration de la texture dans les deux muscles. En conséquence, l'utilisation de cette combinaison a eu un effet cumulatif sur la préservation des muscles blancs et rouges du filet intact du poisson, ce qui a entraîné une prolongation de la durée de conservation des deux types de muscles du thon frégate.

**Mots clés :** Filet de thon (*Auxis thazard*), extrait d'origan, paramètres de qualité, stockage réfrigéré, emballage sous vide.

## **Abstract**

The aim of this thesis is, on the one hand, to improve the knowledge and valuation of medicinal and aromatic plants in Algeria and, on the other hand, to improve the shelf life of frigate tuna fillets (*Auxis thazard*).

The first part of this study focuses on the extraction by maceration of phenolic compounds from oregano shreds, the determination of total polyphenols and flavonoids and the evaluation of the antioxidant activity of oregano extract. The results obtained showed that the extract used could be a promising alternative to reduce the auto-oxidation of food in general and fishery products in particular.

In the second part, the combined effects of oregano extract (0.5 %) and vacuum packaging (VP) on the quality of red and white muscles of frigate tuna stored as intact fillet at refrigerated ( $3\pm 1$  °C) conditions were evaluated. Sensory, chemical, microbiological and textural analyses were carried out in each of the red and white muscles of frigate tuna fillets during storage. Several quality indexes were higher in red muscle than white muscle. Quality parameters of both muscles had the same tendency and were significantly affected by time and also by the presence of plant extract in VP. Sensory assessment indicated that both muscles from control had a shelf-life of 12 days, while those stored in combination with oregano extract had a shelf-life of 18 days. According to peroxide value, white muscle was more exposed to lipid oxidation than red muscle. Although VP alone was sufficient to delay lipid oxidation on fish fillets, especially on red muscle but cannot enhance the textural deterioration in both muscles according to texture profile analysis. Consequently, the employment of such combination had cumulative effect on preservation of white and red muscles from intact fillet, resulting in prolonging the shelf life of both frigate tuna muscles.

**Keywords:** Tuna filet (*Auxis thazard*), oregano extract, quality parameters, refrigerated storage, vacuum packaging.

## الملخص

الهدف الأساسي من هذه العمل يدخل في نطاق تقييم النباتات الطبية والعطرية في الجزائر، فضلا عن تحسين العمر الافتراضي للعضلات الحمراء والبيضاء للتونة (*Auxis thazard*).

يتناول الجزء الأول من هذه الدراسة استخلاص المركبات الفينولية للزعر من طريق النقع، و تحديد كمية البوليفينول الكلي والفلافونويد وتقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص. أظهرت النتائج المتحصل عليها أن المستخلص النباتي المستخدم يمكن أن يكون بديلاً واعداً للحد من أكسدة الأطعمة عامة وخاصة في المنتجات السميكية.

في الجزء الثاني، تمت دراسة تأثيرات الاستعمال المشترك لمستخلص النباتي لزعر (0.5 %) مع التعبئة بتفريغ الهواء على معايير الجودة للعضلات الحمراء والبيضاء للتونة و المخزنة على هيئة شرائح سليمة في ظروف التبريد (3 ± 1 درجة مئوية). أجريت التحليلات الحسية، الكيمائية، الميكروبيولوجية والنسجية في كل من للعضلات الحمراء والبيضاء للشرائح أثناء التخزين. العديد من مؤشرات الجودة كانت عالية في العضلات الحمراء مما كانت عليه في العضلات البيضاء لكنها تغيرت في نفس الاتجاه لكلتا العضلتين و قد تأثرت بشكل كبير بوقت التخزين وكذلك بوجود المستخلص النباتي داخل العبوة مقارنة مع نظرائها غير المعالجة. أشار التقييم الحسي إلى أن كلا العضلتين المخزنة تحت العبوة الفراغية في ظروف التبريد كانت مدة تخزينها 12 يومًا، في حين أن تلك المخزنة مع مستخلص الزعر كانت مدة تخزينها 18 يومًا. وفقا لقيمة البيروكسيد، كانت العضلات البيضاء أكثر عرضة للأكسدة الدهنية من العضلات الحمراء. على الرغم من أن التعبئة بتفريغ الهواء وحدها كانت كافية لتأخير أكسدة الدهون في شرائح التونة خاصة في العضلات الحمراء، إلا أنها لم تجنب التدهور النسجي في كل من العضلتين. ونتيجة لذلك، فإن استخدام مثل هذه التعبئة كان له تأثير تراكمي على الحفاظ على العضلات البيضاء والحمراء لسمك التونة المخزنة على شكل شرائح سليمة، مما أدى إلى تمديد فترة تخزينها.

كلمات البحث: شرائح التونة (*Auxis thazard*)، مستخلص نبات الزعر، معايير الجودة، التعبئة بتفريغ الهواء، التخزين المبرد.

## TABLE DES MATIERES

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumés

	<i>Page</i>
<b>Introduction</b> .....	01

### Partie bibliographique

<b>Chapitre 1. Qualité du poisson</b> .....	04
<b>1. 1. Caractéristiques de la chair de poisson</b> .....	04
1. 1. 1. Structure physique et anatomique .....	04
1. 1. 2. Composition chimique .....	05
1. 1. 2. 1. Protéines et acides aminés libres .....	06
1. 1. 2. 2. Lipides .....	07
1. 1. 2. 3. Extraits azotés non protéiques .....	09
1. 1. 2. 4. Glucides .....	09
1. 1. 2. 5. Vitamines et sels minéraux .....	10
<b>1. 2. Changements post mortem survenant dans le muscle de poisson après la capture</b> .....	11

<b>1. 3. Altérations post mortem du poisson influençant la qualité</b> .....	<b>13</b>
1. 3. 1. Changements sensoriels .....	13
1. 3. 2. Altérations microbiologiques .....	14
1. 3. 3. Changements autolytiques .....	16
1. 3. 4. Changements biochimiques .....	17
1. 3. 4. 1. Hydrolyse des lipides ou la lipolyse .....	18
1. 3. 4. 2. Peroxydation lipidique .....	19
1. 3. 4. 2. 1. L'auto-oxydation .....	19
1. 3. 4. 2. 2. Photo-oxydation .....	21
1. 3. 4. 2. 3. Oxydation enzymatique .....	22
1. 3. 4. 3. Facteurs influençant l'oxydation des lipides .....	23
1. 3. 4. 4. Produits formés au cours de l'oxydation des lipides .....	24
1. 3. 4. 4. 1. Produits primaires .....	24
1. 3. 4. 4. 2. Produits secondaires .....	25
<b>1. 4. Facteurs influençant la qualité et la durée de conservation du poisson réfrigéré</b> .....	<b>26</b>
1. 4. 1. Température de conservation .....	26
1. 4. 2. Hygiène lors de la manutention .....	26
1. 4. 3. Espèce, taille, manutention et propriétés de la peau de poisson .....	27
1. 4. 4. Eviscération .....	27
1. 4. 5. Filetage .....	28
1. 4. 6. Emballage sous vide .....	28
1. 4. 7. Lumière .....	30

<b>Chapitre 2. Les composés phénoliques</b> .....	31
2. 1. <b>Généralités sur les composés phénoliques</b> .....	31
2. 2. <b>Classification</b> .....	32
2. 3. <b>Activités biologiques</b> .....	32
2. 3. 1. Effets antimicrobiens .....	34
2. 3. 1. 1. Généralités .....	34
2. 3. 1. 2. Mécanisme d'action .....	35
2. 3. 2. Effets antioxydants .....	35
2. 3. 2. 1. Définition .....	35
2. 3. 2. 2. Mécanismes d'action .....	36
2. 3. 2. 2. 1. Antioxydants de type I .....	36
2. 3. 2. 2. 2. Antioxydants de type II .....	37
2. 3. 2. 2. 3. Antioxydants de type III .....	37
2. 4. <b>Méthodes d'extraction</b> .....	37

## **Partie expérimentale**

<b>Problématique</b> .....	39
----------------------------	----

### **Partie 1. Extraction et évaluation des composés phénoliques, des flavonoïdes et de l'activité antioxydante de l'extrait naturel d'origan**

1.1. <b>Objectifs</b> .....	42
-----------------------------	----

1.2.	<b>Matériel et méthodes</b>	42
1.2.1.	Présentation du matériel végétal et préparation de l'extrait phénolique	42
1.2.2.	Détermination de la teneur en polyphénols totaux	43
1.2.3.	Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux	45
1.2.4.	Evaluation de l'activité antioxydante	47
1.3.	<b>Résultats et discussion</b>	49
1.3.1.	Détermination du rendement d'extraction	49
1.3.2.	Teneur en polyphénols totaux	49
1.3.3.	Teneur en flavonoïdes totaux	50
1.3.4.	Evaluation de l'activité antioxydante	51

**Partie 2. Effet de l'application de l'extrait d'origan sur les paramètres de qualité des filets de thon frégate conservés dans l'emballage sous vide à température de réfrigération (3±1 °C)**

2.1.	<b>Objectifs</b>	54
2.2.	<b>Matériel et méthodes</b>	54
2.2.1.	Présentation du matériel animal et conditions d'entreposage	54
2.2.2.	Analyse sensorielle	55
2.2.2.1.	Filets crus...	55
2.2.2.2.	Filets cuits...	57
2.2.3.	Analyses physico-chimiques	58
2.2.3.1.	pH	58
2.2.3.2.	Dosage de l'Azote basique volatil total (ABVT)	58
2.2.3.3.	Indice de peroxyde (IP)	58

2.2.3.3.1. Extraction des lipides .....	59
2.2.3.3.2. Dosage des peroxydes .....	59
2.2.3.4. Dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (SR-ATB) .....	60
2.2.3.5. Analyse des acides gras libres (AGL) .....	60
2.2.4. Analyses microbiologiques .....	61
2.2.5. Analyse du profil de texture (APT) .....	62
2.2.6. Analyse statistique des résultats .....	62
<b>2.3. Résultats et discussion .....</b>	<b>62</b>
2.3.1. Analyse sensorielle .....	62
2.3.1.1. Filets crus .....	63
2.3.1.2. Filets cuits .....	64
2.3.2. Analyses physico chimiques .....	66
2.3.2.1. Variations du pH et évaluation de la teneur en ABVT .....	66
2.3.2.2. Oxydation des lipides .....	69
2.3.2.2.1. Evaluation de l'indice de peroxyde (IP) .....	69
2.3.2.2.2. Evaluation des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (SR-ATB) .....	71
2.3.2.3. Hydrolyse des lipides (analyse des acides gras libres) .....	73
2.3.3. Analyses microbiologiques .....	75
2.3.4. Variation de la texture / Analyse du profil de texture .....	77
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>82</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>85</b>

## Introduction

Le poisson a une valeur nutritionnelle très élevée et constitue une excellente source de protéines de haute qualité, de vitamines, de minéraux et d'acides gras polyinsaturés de la série des n-3 notamment les acides eicosapentaénoïque (EPA) et docosahexaénoïque (DHA) (Kenar et al., 2010 ; Erkan et al., 2007) rendant le poisson très sensible aux réactions d'oxydation et d'hydrolyse (Azhar et Nisa, 2006).

Immédiatement après la mort (post mortem), le système défensif qui maintient le muscle stérile chez le poisson vivant s'effondre, laissant place un processus naturel et complexe de décomposition qui résulte de l'action simultanée d'enzymes autolytiques et de l'activité microbienne (Genç et al., 2013 ; Goulas et Kontominas, 2007), ceci va provoquer une autolyse post mortem violente limitant ainsi sa durée de conservation, en particulier pendant les fortes périodes d'alimentation où le poisson contient diverses bactéries et enzymes dans le système intestinal (Huss, 1995 ; Genç et al., 2013). Ce processus affecte la fraîcheur du poisson et entraîne une rapide altération des propriétés organoleptiques, une réduction de la valeur nutritive, la formation de substances toxiques et favorise la prolifération des microorganismes limitant ainsi sa durée de conservation. Ce même processus conduit en présence d'oxygène, à la formation de produits primaires tels que les diènes conjugués et les hydroperoxydes très instables, qui donnent rapidement par une multitude de réactions de décomposition des produits secondaires hautement réactifs et toxiques tels que les aldéhydes, alcools et cétones, responsables des altérations d'odeurs, de saveur, de couleur et de texture (Cillard et Cillard, 2006 ; Rezaei et Hosseini, 2008) rendant le poisson impropre à la consommation. De plus, la protéolyse bactérienne et biochimique accentue l'altération du poisson par la formation d'amines volatiles et d'amines biogènes thermostables (Ozogul et al., 2011).

*Auxis thazard*, appelé communément thon frégate, est une espèce pélagique semblable au thon, largement répandue dans le monde entier. Sa consommation est récemment devenue populaire dans de nombreux pays, car il est utilisé comme matière première alternative pour la production des célèbres tataki, surimi et sashimi qui sont consommés à l'état cru (Chaijan et al., 2013 ; Majkowski, 2005). Comme tous les produits de la pêche, le thon

frégate est extrêmement périssable. Sa durée de vie est très limitée, elle est d'environ 5 - 7 jours (Koral et Köse, 2012). Par conséquent, il est nécessaire de développer des méthodes alternatives efficaces pour ralentir la détérioration du produit et maintenir sa qualité, d'autant plus que la durée de conservation des filets de poisson est plus courte que le poisson entier (Yerlikaya et Gökoğlu, 2010).

La durée de conservation du poisson peut être considérablement allongée en modifiant l'environnement du produit (Sáez et al., 2015). Le refroidissement rapide ou le stockage dans de la glace pilée sont des méthodes couramment utilisées pour prolonger la durée de conservation des produits de la pêche (Etemadi et al., 2013). Cependant, en présence d'une atmosphère ordinaire (Ozogul et al., 2004) où la croissance des bactéries aérobies est favorisée, l'oxygène présent dans l'air provoque une intense rancidité lipidique indésirable en raison de la forte proportion d'acides gras polyinsaturés dans la chair de poisson (Sáez et al., 2015 ; Ozogul et al., 2004).

Parmi les nombreuses techniques utilisées pour prolonger la durée de conservation des produits de la pêche, le conditionnement sous vide (SV) associé à la réfrigération. C'est l'une des méthodes de conservation les plus répandues, impliquant la modification de l'atmosphère à l'intérieur du conditionnement (Sáez et al., 2015). Le conditionnement sous vide prolonge la durée de conservation des produits de pêche par élimination de l'air contenu dans l'emballage, réduisant ainsi la disponibilité en oxygène indispensable à la croissance des bactéries aérobies (Church, 1998), empêchant la rancidité des lipides du poisson (Perez-Alonso et al., 2004), assurant un assemblage correct (Genç et al., 2013) et une protection contre les agressions extérieures telles que la déshydratation observée lors de la réfrigération. Cependant, le conditionnement sous vide n'a pas un effet inhibiteur total sur la croissance microbienne, ce qui entraîne à terme, une apparition d'odeurs désagréables et un aspect gluant du poisson (Samelis et al., 2000).

Ainsi, il est nécessaire de combiner ces techniques avec l'application d'extrait de plantes afin de garantir une meilleure qualité et sécurité des produits emballés sous vide. Le trempage dans un agent de conservation naturel tel que l'extrait d'origan combiné à un emballage sous vide pourrait constituer un système efficace de conservation et donner aux

produits de la pêche une meilleure qualité sensorielle et microbiologique que ceux conditionnés dans des emballages courants.

Les travaux entrepris ont pour objectif principal d'étudier l'effet potentiel de la combinaison de quelques techniques de conservation sur la préservation des filets de poisson.

Notre manuscrit est organisé en deux parties :

- La première partie est une synthèse bibliographique, où le premier chapitre est consacré à la qualité du poisson incluant les caractéristiques de la chair de poisson, les changements et les altérations qui y surviennent post mortem, et leurs influences sur sa qualité et la durée de conservation du poisson à l'état réfrigéré. Le deuxième chapitre traite des composés phénoliques, de leurs activités biologiques et de leurs méthodes d'extraction.
- La seconde partie est expérimentale, elle est scindée en deux études distinctes.
  - ⊖ La première est relative à l'extraction et l'évaluation des composés phénoliques, des flavonoïdes et à l'étude de l'activité antioxydante de l'extrait naturel d'origan.
  - ⊖ La seconde est consacrée à l'évaluation de l'effet de la combinaison de l'extrait éthanolique d'origan avec le conditionnement sous vide sur la durée de conservation des muscles blancs et rouges de thon frégate (*A. thazard*), conservés dans des conditions de réfrigération ( $3\pm 1$  °C), par l'intermédiaire de l'étude de différents critères de la qualité chimique, microbiologique, sensorielle et texturale.

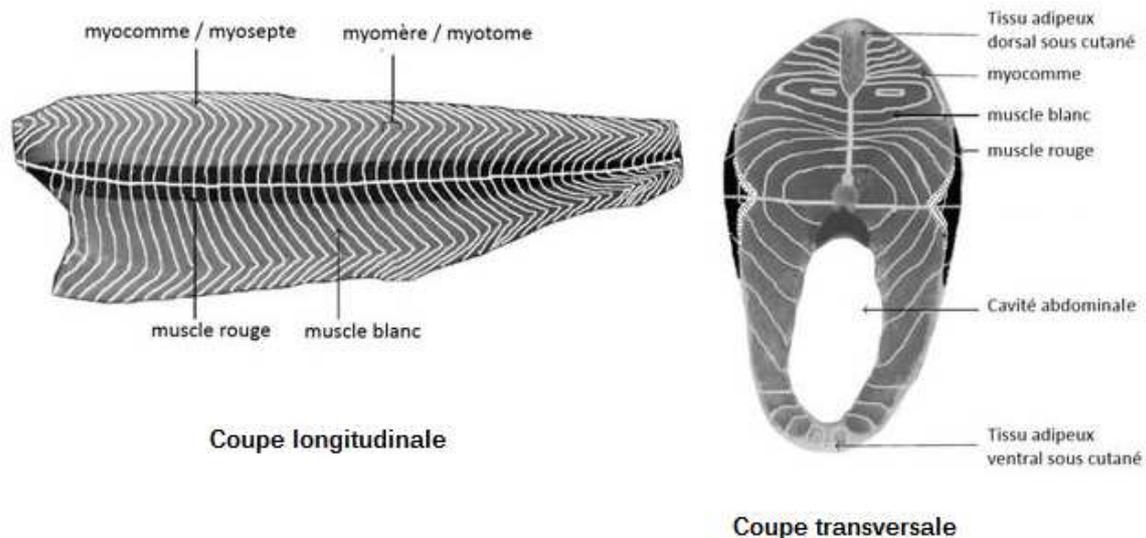
## **Partie bibliographique**

## 1.1. Caractéristiques de la chair de poisson

### 1.1.1. Structure physique et anatomique

La partie du poisson couramment consommée est constituée par les muscles des filets. La structure et la texture des muscles du poisson sont différentes de celles des autres animaux. Ce sont principalement des muscles longs divisés en feuilletés appelés myotomes ou myomères. Sur une coupe longitudinale représentant la disposition des feuilletés dans les muscles, les myomères forment des dessins en W parallèles reliés aux septa médians longitudinaux, alors que sur une coupe transversale ils décrivent des courbes complexes (figure 1) (Listrat et al., 2015).

La forme des myotomes est une caractéristique de l'espèce (Dunajski, 1979). Chaque myotome est composé de fibres musculaires courtes. Celles-ci s'étendent entre deux myoseptes (cloison conjonctive séparant deux myotomes), plus ou moins parallèlement au grand axe du muscle. Le diamètre des fibres est lui aussi variable, lié à l'espèce, à l'âge, à la fonction du muscle et à la localisation dans le muscle (Love, 1958).



**Figure 1.** Anatomie du muscle de poisson (Listrat et al., 2015).

La chair du poisson est constituée de deux types de muscles : le muscle rouge et le muscle blanc ;

- Le muscle rouge, de type oxydatif: il caractérise les téléostéens, il est généralement présent sous forme d'une fine couche située sous la peau ; il est plus abondant sur les flancs du poisson (le long de ligne latérale). Sa proportion dans la chair varie d'une espèce à l'autre. Ce muscle participe au déplacement du poisson ce qui explique sa forte vascularisation. Il est considéré comme un muscle de croisière, c'est-à-dire utilisé pour les mouvements continus et lents de nage continue. Il contient davantage de lipides, de collagène, d'hémoglobine, de glycogène et la majorité des vitamines (Bendixsen et Jobling, 2003 ; Medale, 2005).
- Le muscle blanc, de type glycolytique : quantitativement le plus important puisqu'il représente jusqu'à 50 % de la masse corporelle du poisson et peut constituer jusqu'à 90 % de la masse squelettique (Rome et al., 1988). Il se compose de fibres à contraction rapide à métabolisme anaérobie de type glycolytique. C'est un muscle de propulsion sollicité lors de la nage intense aux mouvements rapides et soudains comme chasser une proie ou éviter un prédateur (Leduc et al., 2011 ; Huss, 1999).

### 1.1.2. Composition chimique

La composition globale de la plupart des poissons est principalement de l'eau, des protéines et des lipides, ces constituants représentent environ 98 % (Tableau 1) (kolakowska et al., 2002). La chair est particulièrement riche en protéines solubles hautement digestibles de haute valeur biologique. La teneur en protéines de la chair de poisson semble être stable chez toutes les espèces. Elle augmente progressivement lors de la croissance pour se stabiliser à une valeur proche de 20 %. En revanche, la teneur lipidique et en micronutriments varient considérablement d'une espèce à une autre, et d'un individu à l'autre en fonction de l'âge, du sexe, de l'environnement, de la saison, du stade de maturité; elle est surtout corrélée avec le régime alimentaire (Medale, 2005).

**Tableau 1.** Composition chimique comparative de muscle de poissons gras, semi-gras et maigres (Huss, 1999).

	Eau	Protéines	Lipides	Glucides	Cendres
<b>Poissons gras</b>	68.6 %	20.0 %	10.0 %	0.6 %	1.4 %
<b>Poissons semi-gras</b>	77.2 %	19.0 %	2.5 %	0.6 %	1.3 %
<b>Poissons maigres</b>	81.2 %	16.4 %	0.5 %	0.4 %	1.3 %

### 1.1.2.1. Protéines et acides aminés libres

Les protéines sont les constituants organiques majeurs des tissus de poissons environ 60 à 75 % du poids sec de ces tissus (Tanner et al., 2000). La teneur en protéines des tissus musculaires semble être remarquablement constante chez les poissons avec une valeur moyenne de 19 % du poids frais (Medale, 2009).

Les protéines des tissus musculaires du poisson sont classées en protéines extra et intra-cellulaires, représentées dans le tableau 2, peuvent être divisées en trois groupes fonctionnels différents (Leduc et al., 2011 ; Medale et al., 2005):

- **Protéines sarcoplasmiques** (myoglobine, globuline et enzymes) représentent 10 à 30 % des protéines totales, ces protéines sont les seules hydrosolubles.
- **Protéines structurelles** (protéines myofibrillaires) telles que l'actine, la myosine, les tropomyosines, les troponines, la desmine, la nébuline, l'actinine, constituent 70 à 80 % des protéines totales.
- **Protéines du tissu conjonctif** (protéines insolubles) constituent environ 3 à 10 % des protéines totales contenues dans le poisson (comparé à 15 % chez les mammifères). La teneur en collagène, constituant majeur du tissu conjonctif est jusqu'à 10 fois plus faible que dans la viande de bœuf. Le collagène de la chair de poisson contient 2 à 3 fois moins de proline et d'hydroxyproline. Ces acides aminés jouent un rôle déterminant dans la rigidité et la résistance mécanique du tissu conjonctif, ce qui participe aux différences de texture entre le poisson et la viande.

La teneur en protéines des poissons est globalement stable (Karakoltsidis et al., 1995) et indépendante du sexe des individus (Robards et al., 1999). Il a été démontré qu'une augmentation de la teneur en protéines de l'aliment induit une augmentation de la teneur en protéines du poisson (Britz et Hecht, 1997 ; Gunasekera et al., 1997). La teneur en protéines augmente avec la taille du poisson au sein d'une même espèce et notamment au cours des périodes de forte croissance (Shirai et al., 2002). Par contre, une réduction de la teneur en protéines a été observée en période de migration et de reproduction ou lors d'un jeûne prolongé (Aksnes et al., 1986).

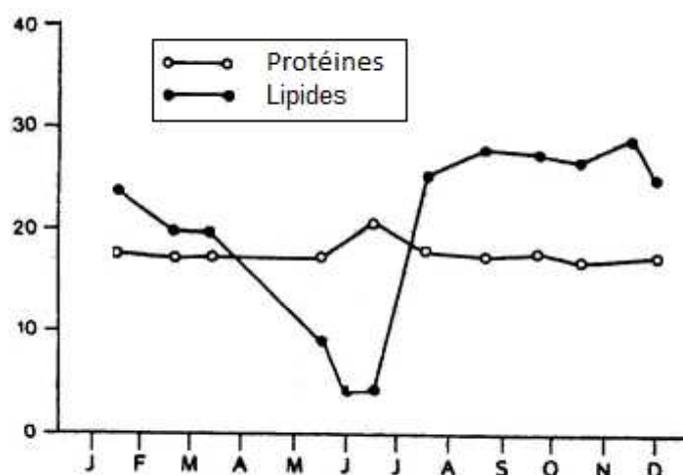
**Tableau 2.** Répartition des différents groupes de protéines dans le muscle du poisson (Cheptel et Cheptel, 1976).

		Muscle de poisson	Muscle de mammifère
<b>Protéines intracellulaires</b>	<b>Protéines sarcoplasmiques</b>	15-25 %	25-30 %
	<b>Protéines myofibrillaires</b>	65-75 %	50 %
	<b>Dont myosine</b>	50-60 %	54 %
	<b>Actine</b>	15-25 %	27 %
<b>Protéines extracellulaires</b>	<b>Protéines conjonctives</b>	3-10 %	10-15 %

### 1.1.2.2. Lipides

Les lipides font partie d'une classe complexe hétérogène de constituants insolubles dans l'eau et soluble dans certains solvants organiques, tels que l'éthanol, le méthanol, le chloroforme, l'acétone, etc.

La teneur en lipides dans la chair du poisson dépend de plusieurs facteurs, tels que : l'âge, le cycle sexuel et les facteurs environnementaux (la température) (Corraza et Kaushik, 1999), mais aussi de l'alimentation et des variations saisonnières (figure 2) (Gomez-Requeni et al., 2004 ; Shirai et al., 2002).



**Figure 2.** Variation saisonnière de la composition chimique des filets de maquereau (*Scomber scombrus*) (Huss, 1999).

Les lipides du poisson se distinguent des lipides des autres animaux par la forte teneur en acide gras polyinsaturés (AGPI) de la série des oméga 3 (15 à 36 % de l'ensemble des acides gras présents), notamment les acides eicosapentaénoïques (EPA) et docosahexaénoïques (DHA) (Rose et Connolly, 1999). Cette prédominance est due à la forte concentration d'acides gras polyinsaturés (n-3) dans le phytoplancton (Sargent et al., 1989).

Medale (2009) a rapporté que l'EPA et le DHA, représentent en moyenne 25 % des lipides de la chair des poissons contre seulement 0.5 à 3 % chez les animaux terrestres. Les oméga 3 confèrent à la chair de poisson sa valeur diététique (Connor, 2000) puisqu'ils sont reconnus comme des aliments fonctionnels, incontestablement bénéfiques contre les maladies cardio-vasculaires (Lecerf, 2007), les phénomènes inflammatoires (Calder et al., 2011) et le développement optimal du système nerveux central (Guesnet et al., 2005). Cet apport en AGPI dépend exclusivement de l'alimentation (De Souza et al., 2007).

Les réserves énergétiques du poisson se font principalement sous la forme de triglycérides. Chez le poisson, les principaux sites de dépôts lipidiques sont le foie, le muscle, le tissu adipeux périviscéral et parfois le tissu adipeux sous-cutané (Sheridan, 1988 ; Medale, 2005). L'importance de ces sites de stockage varie selon les espèces. D'une manière globale, les viscères et le foie sont les lieux de stockage principaux pour les espèces maigres (Sheridan, 1988), alors que c'est principalement le muscle et certaines parties sous la peau pour les espèces grasses (Corraze et Kaushik, 1999). La teneur en lipides des muscles dépend aussi de la nature du muscle considéré (Huss, 1988). Pour les poissons maigres, les muscles rouges contiennent environ deux fois plus de lipides que les muscles blancs (Body et Vlieg, 1989).

En fonction de la capacité du tissu musculaire à stocker les lipides, les poissons peuvent être répartis en trois groupes (Sainclivier, 1983):

- **Poissons maigres** : dont la teneur en lipides dans le muscle est inférieure à 1 %. Ces derniers sont massivement déposés dans le foie (jusqu'à 70 %). C'est le cas des poissons de fond comme la sole (*Solea solea*).
- **Poissons gras** : dont la teneur en lipides dans le muscle varie généralement entre 5 et 25 %. C'est le cas des espèces pélagiques comme le hareng (*Clupea harengus*) et le maquereau (*Scomber japonicus*). La teneur en lipides des pois-

sons gras augmente de la queue vers la tête contrairement aux poissons maigres.

- **Poissons "intermédiaires" ou semi-gras** : dont la teneur en lipides est comprise entre 1 et 5 %. Ces poissons cumulent les lipides dans le tissu adipeux périviscéral et ensuite dans le muscle comme les salmonidés.

### 1.1.2.3. Extraits azotés non protéiques

Huss (1995) a décrit les extraits azotés comme étant des composés de nature non protéique, solubles dans l'eau, de faibles poids moléculaires et renfermant de l'azote. Cette fraction ANP (Azote non protéique) constitue de 9 à 18 % de l'azote chez les téléostéens. Elle se compose principalement : des bases volatiles telles que l'ammoniaque et l'oxyde de triméthylamine (OTMA), la créatine, les acides aminés libres, les bases nucléotides et des bases puriques. Dans le cas des poissons cartilagineux, la fraction ANP comprend aussi l'urée. Quantitativement, la créatine représente la principale composante de cette fraction. Elle fournit de l'énergie pour la contraction musculaire. La fraction ANP contient également une teneur assez importante en acides aminés libres à noyau imidazole et qui semblent prédominer chez la plupart des poissons. Les plus recensés d'entre eux sont : la taurine, l'alanine, la glycine et en particulier l'histidine. Oehlenschläger et Rehbein (2009) ont démontré l'existence d'une variation de la composition en ANP entre les espèces et entre les individus de la même espèce suivant la taille, la saison et le muscle.

### 1.1.2.4. Glucides

La chair de poisson est relativement pauvre en glucides, habituellement inférieure à 1 %, le glycogène, qui est une forme de stockage du glucose, constitue le sucre essentiel (Huss, 1999). Cette teneur varie selon les espèces et l'état alimentaire, elle est influencée également par les conditions de capture et le degré de fatigue qui peuvent conduire à l'épuisement des réserves de glycogène et ainsi à une diminution du niveau de glucides (Schulz et al., 2005). Dans les conditions anoxiques post mortem, le glycogène continue d'être métabolisé et l'évolution du pH en conditions post mortem dépend de la quantité d'acide lactique formée (El-Rammouz et al., 2013).

### 1.1.2.5. Vitamines et sels minéraux

La chair du poisson est riche en vitamines A et D liposolubles et en vitamines B hydrosolubles (Regost et al., 2001). Elle constitue une bonne source de minéraux comme le calcium, l'iode, le fer, le potassium et le phosphore en particulier, mais également de cobalt, de cuivre, de manganèse, de sélénium et de zinc (Leduc et al., 2011). Cependant, la chair de poisson est relativement pauvre en sodium, ce qui la rend compatible avec un régime hyposodé (Battu, 2014). La teneur en vitamines et sels minéraux est spécifique et varie selon l'espèce, la saison et l'alimentation (Huss, 1999). Le tableau 3 présente quelques minéraux contenus dans le muscle du poisson.

**Tableau 3.** Quelques vitamines et sels minéraux contenu dans le muscle de quelques espèces de poissons (Assogba et al. 2018).

	<b>Sole</b> <i>Solea solea</i>	<b>Bar Commun</b> <i>Dicentrarchus labrax</i>	<b>Maquereau</b> <i>Scomber scombrus</i>
<b>Vitamine A *</b>	5	14.71	56.6
<b>Vitamine D *</b>	0.75	2.31	6.44
<b>Vitamine E **</b>	0.47	1.35	1.16
<b>Vitamine B6 **</b>	0.26	0.39	0.53
<b>Vitamine B12 *</b>	1.91	4.33	4.9
<b>K **</b>	349	430	340
<b>P **</b>	170	209	190
<b>Na **</b>	76.3	46.6	64
<b>Mg **</b>	26.9	32.3	28.4
<b>Se *</b>	23	8	38
<b>Fe **</b>	0.35	0.39	0.48
<b>I **</b>	88	9	87

\* ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) ; \*\* ( $\text{mg}/100\text{g}$ ) ; K : potassium ; P: Phosphore; Na: Sodium; Mg: Magnesium; Se: Sélénium ; Fe : Fer ; I : Iode

## 1.2. Changements post mortem survenant dans le muscle de poisson après la capture

Les changements post mortem rencontrés dans le muscle de poisson suivent en général le même schéma que dans le muscle des mammifères (figure 3).

Immédiatement après la mort du poisson, la circulation sanguine s'arrête. Les tissus, et en particulier les muscles, ne sont plus oxygénés et sont totalement relaxés. Le poisson est mou et souple et la texture ferme et élastique au toucher. Le métabolisme s'en trouve perturbé : la dégradation du glycogène en glucose, puis en  $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2\text{O}$ , ne se fait plus par la voie des acides carboxyliques (cycle de Krebs) mais par glycolyse anaérobie qui a comme fonction la synthèse de molécule riche en énergie : le pyruvate, qui sera rapidement dégradé en acide lactique (Huss, 1988 ; Sikorski, 1980 ; Dunajski, 1979 ; Love, 1958).

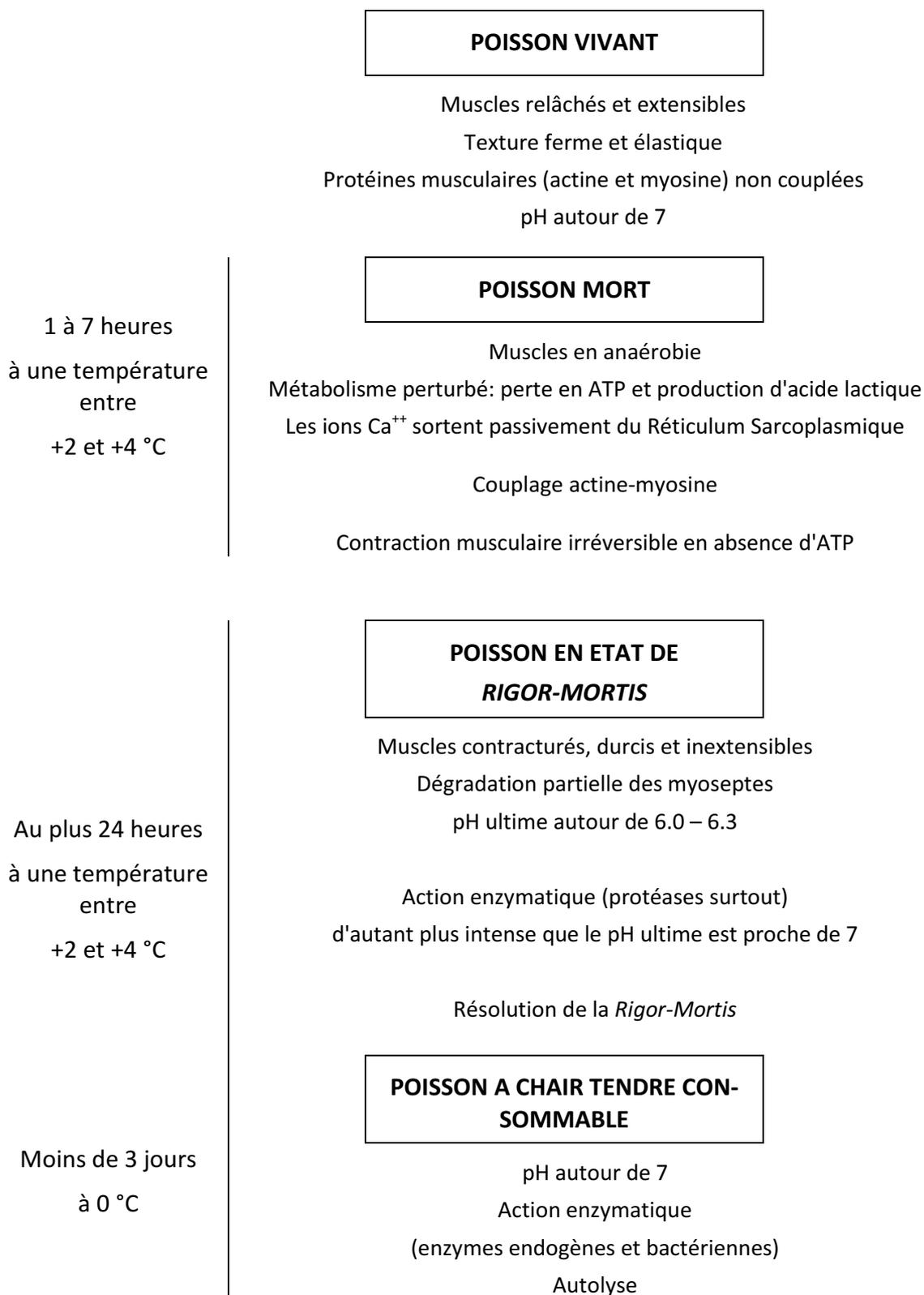
La baisse du pH est cependant limitée par le pouvoir tampon du muscle et le pH atteint bientôt une valeur limite (pH ultime : 6.0 à 6.3) d'autant plus rapidement que la quantité de glycogène disponible est grande. Le tissu musculaire s'acidifie et par conséquent la quantité d'énergie utilisable (ATP) diminue (Huss, 1988 ; Love, 1958).

La perméabilité sélective de la membrane du réticulum sarcoplasmique vis-à-vis des ions calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) disparaît à la mort du poisson. Dès lors ces ions peuvent diffuser librement hors du réticulum sarcoplasmique. Quand les niveaux intracellulaires de  $\text{Ca}^{2+}$  sont élevés, l'enzyme intramusculaire ATP-ase réduit les quantités d'ATP musculaire libre et provoquent la formation du complexe actomyosine à l'origine de la contraction musculaire. Si l'ATP n'est plus présent en quantité suffisante, cette contraction devient irréversible c'est la rigidité cadavérique (*Rigor-Mortis*) qui s'accompagne d'un raccourcissement des muscles (Sikorski, 1980 ; Dunajski, 1979). Pendant cet état, le poisson ne peut pas être fileté ou traité car le poisson est trop raide pour être manipulé.

La *Rigor-Mortis* apparaît généralement de 1 à 7 heures après la mort. Le moment d'apparition et la durée de cette étape dépend de plusieurs facteurs tels que : espèce, taille, méthode de pêche, manutention, température et l'état physique (Huss, 1988).

Cependant les poissons pendant cette phase sont difficiles à fileter. Les poissons qui ont dépassé la *rigor-mortis* sont plus appréciés. Pendant la phase post-*rigor*, le pH remonte à

7 et la chair se ramollit par autolyse et devient souple, relaxée et pliable (Assogba, et al. 2018).



**Figure 3.** Evolution naturelle du muscle de poisson après la capture (Sikorski, 1980)

### 1.3. Altérations post mortem du poisson influençant la qualité

Le poisson est une denrée alimentaire fragile et hautement altérable et périssable. Son altération est un phénomène séquentiel qui commence immédiatement après la mort du poisson (post mortem). Plusieurs mécanismes se produisent et se développent plus intensément que chez les animaux terrestres en raison de sa teneur très élevée en eau, à la quantité réduite du tissu conjonctif, à la concentration importante d'azote extractible et à la présence de lipides fortement insaturés (Dalgaard, 1995).

#### 1.3.1. Changements sensoriels

Les changements sensoriels sont ceux perçus par les sens. Les premières modifications sensorielles du poisson pendant le stockage concernent l'apparence, la texture et l'odeur. Ces modifications sensorielles caractéristiques qui surviennent dans le poisson en phase post mortem affectent parallèlement l'odeur, la peau, les branchies, le mucus, l'œil et la rigidité du corps et varient considérablement selon l'espèce de poisson et la méthode de conservation (Huss, 1999).

Des odeurs désagréables sont décelées lors de l'altération bactérienne du poisson. Ces odeurs sont différentes et variées selon l'espèce de poisson et des bactéries en cause qui à faible taux engendrent une modification sensorielle perceptible sur le poisson. Ces odeurs sont dues à différents composés tels que l'acétaldéhyde, le diméthylsulfure, le diméthylidysulfure, le méthylmercaptan, l'éthylacétate, l'éthylalcool, l'hexanoate d'éthyle, le butyrate d'éthyle, la butanone, l'ammoniac, la DMA, la TMA, l'hydrogène sulfuré et l'acide sulfhydrique (Joffraud et al., 2001).

Le goût caractéristique du poisson se conserve normalement pendant les deux premiers jours de la conservation sous glace (Huss, 1999). Lors de l'altération, l'évolution du goût se traduit au début par une diminution prononcée de la saveur spécifique qui est progressivement remplacée par des saveurs différentes suivant les espèces et la nature des contaminations (lactique, acétique, butyrique, amère, sulfurée, ammoniacale) (Soudan et al., 1965).

L'inconvénient majeur du poisson est que son altération est peu maîtrisée et que l'estimation de son niveau de fraîcheur est difficile. Les changements organoleptiques du

poisson et donc de sa qualité sont surtout liés aux changements autolytiques, bactériologiques et lipidiques (Bensid, 2014).

### 1.3.2. Altérations microbiologiques

En condition normale, la chair de poisson est stérile (Guiraud, 1998). Cependant, la peau, les branchies et l'intestin renferment une flore commensale plus ou moins abondante (Bourgeois et Larpent, 1996). La flore bactérienne du poisson fraîchement pêché dépend de l'environnement dans lequel il vit (Shewan, 1977).

En effet, la microflore des poissons est généralement prédominée par les bactéries psychrotrophes à Gram négatif appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Shewanella* et *Flavobacterium* mais aussi par *Vibrionaceae* (*Vibrio* et *Photobacterium*) et des *Aeromonodaceae* (*Aeromonas* spp.) (Huss, 1999). Alors que les bactéries à Gram positif comme *Bacillus*, *Micrococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* et corynéformes peuvent être retrouvés en quantités variables. Les *Enterobacteriaceae* peuvent être présents à des charges élevées dans l'environnement (Huss, 1999).

Après la mort du poisson et suite à l'autolyse, les enzymes digestives détruisent la barrière intestinale et permettent la dissémination des germes, qui sont en phase de croissance exponentielle, dans le muscle (Shewan, 1977). Ces microorganismes sont de nature psychrotrophes, ce qui explique leur action même à basse température.

Par ailleurs, au cours des opérations de transformation : éviscération, étêtage, filetage et parage, ces microorganismes peuvent contaminer la chair du poisson malgré que ces étapes soient suivies du lavage et de la réfrigération pour réduire la charge microbienne (Tahiri, 2007).

Au cours de l'entreposage, la microflore varie de façon très importante (Huss, 1999). Ainsi, au cours de l'entreposage aérobie réfrigéré, la microflore d'altération est composée presque exclusivement de *Pseudomonas* spp. et *Shewanella putrefaciens* (Morita, 1975 ; Devaraju et Setty, 1985). Ces germes produisent de la triméthylamine (TMA), de l'hydrogène sulfuré (H<sub>2</sub>S) et autres sulfures volatils qui donnent lieu à des odeurs et des saveurs anormales décrites comme : fruitées, sulfureuses et fétides pour *Pseudomonas* et sulfureuses

rappelant l'œuf pourri pour *Shewanella* (Huss, 1995). Des métabolites similaires sont formés par les *Vibrionaceae* et particulièrement par les *Enterobacteriaceae* au cours de l'altération à des températures plus élevées (+20 à +30 °C) (Huss, 1999). *Photobacterium* est l'une des principales bactéries psychrophile d'altération qui produit de grandes quantités de TMA pendant l'entreposage réfrigéré et en atmosphère modifiée (contenant du CO<sub>2</sub>) (Huss, 1995). La microflore dominante et les bactéries d'altération spécifiques intervenant dans l'altération du poisson frais sont indiqués dans le tableau 4.

**Tableau 4.** Microflore dominante et bactéries d'altération spécifiques intervenant dans l'altération du poisson frais au cours de l'entreposage (adapté de Huss (1995)).

T°	Type d'Emballage	Microflore dominante	Organismes d'altération spécifique	Références
0 °C	En aérobie	Bâtonnets Gram-négatifs, psychrotrophes, non fermentatifs ( <i>Pseudomonas</i> sp., <i>S. putrefaciens</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Acinetobacter</i> )	<i>S. putrefaciens</i> <i>Pseudomonas</i>	Du et al. (2002) Gram et al. (1987) Huss (1995)
	Sous-Vide	Bâtonnets Gram-négatifs; psychrotrophes ou à caractère psychrophile	<i>S. putrefaciens</i> <i>P. phosphoreum</i>	Dalgaard et al. (1993) Jorgensen et Huss (1989)
	Atmosphère modifiée	Bâtonnets Gram-négatifs, fermentatifs à caractère psychrophile  Bâtonnets Gram-négatifs, non fermentatifs, psychrotrophes (1–10% : <i>Pseudomonas</i> , <i>S. putrefaciens</i> )  Bâtonnets Gram-positifs (bactéries lactiques)	<i>P. phosphoreum</i>	Dalgaard et al. (1993) Van Spreekens (1977)
+5 °C	En aérobie	Bâtonnets Gram-négatifs, psychrotrophes ( <i>Vibrionaceae</i> , <i>S. putrefaciens</i> )	<i>Aeromonas</i> sp. <i>S. putrefaciens</i>	Gram et al. (1990) Jinadasa et al. (2014)
	Sous-Vide	Bâtonnets Gram-négatifs, psychrotrophes ( <i>Vibrionaceae</i> , <i>S. putrefaciens</i> )	<i>Aeromonas</i> sp. <i>S. putrefaciens</i>	Jorgensen et Huss (1989) Van Spreekens (1977)
	Atmosphère modifiée	Bâtonnets Gram-négatifs, psychrotrophes ( <i>Vibrionaceae</i> )	<i>Aeromonas</i> sp.	Donald et Gibson (1992) Widiastuti et al. (2013)
+20 à +30 °C	En aérobie	Bâtonnets Gram-négatifs, fermentatifs, mésophiles ( <i>Vibrionaceae</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> )	<i>Aeromonas</i> sp.	Gram et al. (1987) Gram et al. (1990) Barile et al. (1985)

La présence des germes dans le poisson n'est pas sans conséquence et engendre des modifications dues à la disparition de certaines substances et à l'apparition de déchets conduisant ainsi à la disparition de l'odeur caractéristique du poisson frais (odeur d'algue marine) et l'apparition progressive d'odeurs aigres ou acides puis aminées et soufrées, enfin ammoniacales et fécale (état putride) (Kodo, 1990).

Les sous-produits issus du métabolisme bactérien qui se développent dans le poisson au cours de sa dégradation naturelle sont généralement la triméthylamine (TMA), l'ammoniaque, les composés soufrés volatils, les aldéhydes, les cétones, les esters, l'hypoxanthine ou encore des amines biogènes telles que la putrescine, la cadavérine, la tyramine, la spermine ou l'histamine (Huss, 1999). Les principaux substrats pour la production des sous-produits sont les glucides (lactate, ribose, etc.), les nucléotides (inosine, monophosphate, inosine, etc.), les molécules azotées non protéiques "ANP" et les acides aminés (Bensid, 2014 ; Kodo, 1990).

### **1.3.3. Changements autolytiques**

Comme cité précédemment, la glycolyse post mortem est la seule voie possible de production d'énergie. Elle a essentiellement comme résultat final l'abaissement du pH dans le muscle suite à l'accumulation de l'acide lactique et pyruvique. L'état nutritionnel, le stress et la fatigue du poisson avant et pendant la capture ont un impact important sur le taux du glycogène stocké et par conséquent, sur le pH final post mortem. Il a été montré que quelques minutes seulement de stress avant capture produisaient une baisse de l'ordre de 0.40 unité de pH en trois heures dans un poisson débattu par rapport à un poisson qui ne s'est pas débattu (Chiba et al., 1991).

La chute du pH post mortem du muscle du poisson affecte les propriétés physiques du muscle du poisson avec une dénaturation partielle des protéines musculaires et une perte d'une partie de leur capacité de rétention d'eau (Love, 1975).

L'altération autolytique est largement représentée par la dégradation de l'ATP qui aboutit à la formation de l'adénosine di-phosphate (ADP), l'adénosine monophosphate (AMP), l'inosine monophosphate (IMP), l'inosine (Ino) et l'hypoxanthine (Hx) (Surette et al.,

1988). La vitesse de la dégradation des catabolites de l'ATP varie beaucoup d'une espèce à l'autre. Il a été démontré que les produits issus de la dégradation de l'ATP ont pour conséquence l'arrière-gout amer du poisson altéré (Hughes et Jones, 1966). De même, elle est reliée au ramollissement post mortem des tissus du poisson et à l'éclatement de la cavité abdominale sous l'effet des enzymes protéolytiques tissulaires (cathepsines, calpaïnes et collagénases) (Huss, 1995), ce qui fournit un environnement favorable au développement et à la croissance des bactéries d'altération (Aksnes et Brekken, 1988).

Les cathepsines « D » et « L » sont des protéases acides, inactives dans les tissus vivants, libérées dans la chair du poisson à la suite d'accidents physiques et jouent un rôle majeur dans la dégradation autolytique des tissus du poisson (Leduc et al., 2011). La cathepsine L contribue davantage à l'autolyse du muscle de poisson que la cathepsine D car elle est plus active à pH neutre contrairement à la cathepsine D qui est active sur une large gamme de pH (3.0 à 8.0). Il a été constaté qu'elle digérait aussi bien les protéines myofibrillaires (actomyosine) que les tissus conjonctifs (Reddi et al., 1972).

Les calpaïnes ou "CAF : Calcium Activated Factor" sont des protéases qui provoquent l'autolyse post mortem de la chair du poisson par la digestion de la myosine (particulièrement la myosine à chaîne longue) et des protéines Z des myofibrilles (Toyohara et al., 1985). Ces calpaïnes jouent un rôle très important dans le ramollissement de la chair de poisson pendant la conservation car elles sont plus actives à basse température et à pH physiologique (Muramoto et al., 1989).

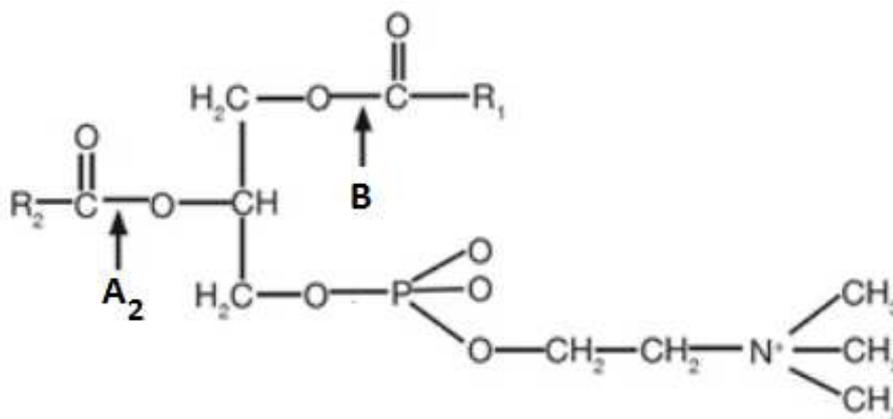
Les collagénases sont des enzymes autolytiques qui produisent la destruction du myotome durant la conservation de longues durées sous la glace ou de courte durée à température élevée conduisant ainsi à la détérioration de la texture de la chair de poisson (Sato et al., 1991).

#### **1.3.4. Changements biochimiques**

Les deux réactions distinctes impliquant les lipides du poisson et d'intérêt pour l'altération de sa qualité au cours de la conservation et de la transformation sont l'oxydation et l'hydrolyse.

### 1.3.4.1. Hydrolyse des lipides ou lipolyse

La lipolyse est l'un des principaux mécanismes de dégradation des lipides *post mortem* (Shewfelt, 1981). C'est un phénomène enzymatique qui se déroule dans la chair du poisson au cours de la transformation et de la conservation et qui permet la libération des AGPI. La lipolyse est ralentie si les températures de conservation sont basses. Elle n'est pas observée dans la chair cuite car la cuisson dénature les enzymes lipolytiques. La lipolyse est catalysée par des enzymes spécifiques : les lipases et les phospholipases A<sub>2</sub> et B (Van Der Bosch, 1980). Les lipases hydrolysent les liaisons esters des glycérides et libèrent à partir des triglycérides (TG) des acides gras (AGL), des diglycérides (DG) et des monoglycérides (MG) (Eymard, 2003). Les phospholipases A<sub>2</sub> hydrolyse la liaison ester en position 2 du glycérol dans les phospholipides (figure 4). Alors que la phospholipase B attaque la liaison ester en position 1 et 2 du glycérol (Hseih et Kinsella, 1989). Ces réactions de lipolyse induisent une dégradation de la qualité du produit, de plus les acides gras libres (AGL) provenant de l'activité de ces enzymes peuvent s'accumuler au cours du stockage pour donner un arrière-goût de savon à la chair du poisson (Huss, 1999). Les activités enzymatiques sur les lipides sont plus importantes dans le muscle rouge que dans le muscle blanc (Shewfelt, 1981 ; Hwang et Regenstein, 1993).



**Figure 4.** Sites d'attaques des phospholipases A<sub>2</sub> et B (Fickers et al., 2008).

En général, les acides gras libérés par ces réactions de lipolyse interagissent avec les protéines favorisant la dénaturation des protéines et induisent une dégradation de la qualité du poisson (Dyer et Fraser, 1959 ; Refsgaard et al., 2000).

### 1.3.4.2. Peroxydation lipidique

Dans les conditions normales (poisson vivant), la peroxydation lipidique existe. C'est un processus physiologique naturel et continu, indispensable à la synthèse des prostaglandines, les leucotriènes, à la leucocytose, à la phagocytose et aux remaniements des membranes cellulaires, c'est la peroxydation lipidique enzymatique (Cillard et Cillard, 2006).

En condition *post-mortem*, la peroxydation lipidique est non enzymatique ou spontanée. C'est un processus oxydatif d'altération des lipides portant essentiellement sur les AGPI. En effet, il est établi que les AGPI sont des cibles privilégiées de l'oxydation en raison de leurs oxygènes bisallyliques facilement oxydables (Cillard et Cillard, 2006). De plus, les acides gras saturés (AGS) ne s'oxydent qu'à des températures supérieures à +60 °C, tandis que les AGPI s'oxydent même lors de l'entreposage des aliments à l'état congelé (Grandjean, 2001 ; Favier, 2003).

L'oxydation des lipides est sous l'influence de plusieurs facteurs intrinsèques tels que la composition en acides gras des lipides, la présence de pro-oxydants (pigments hémiques, enzymes, ions métalliques) ou d'antioxydants naturels (vitamine E, caroténoïdes, etc.) et des facteurs extrinsèques tels que la température, la pression partielle en oxygène, la lumière, l'activité de l'eau, les conditions de stockage et de transformation (Hsieh et al., 1989).

En fonction de l'agent initiateur, l'oxydation des lipides peut résulter de plusieurs voies réactionnelles (figure 5) (Cillard et Cillard, 2006):

- L'auto-oxydation catalysée par la température, les ions métalliques et les radicaux libres;
- La photo-oxydation, initiée par la lumière en présence de photosensibilisateurs;
- L'oxydation enzymatique initiée par la présence des enzymes d'oxydation.

#### 1.3.4.2.1. Auto-oxydation

L'**auto-oxydation** est organisée en 3 phases successives:

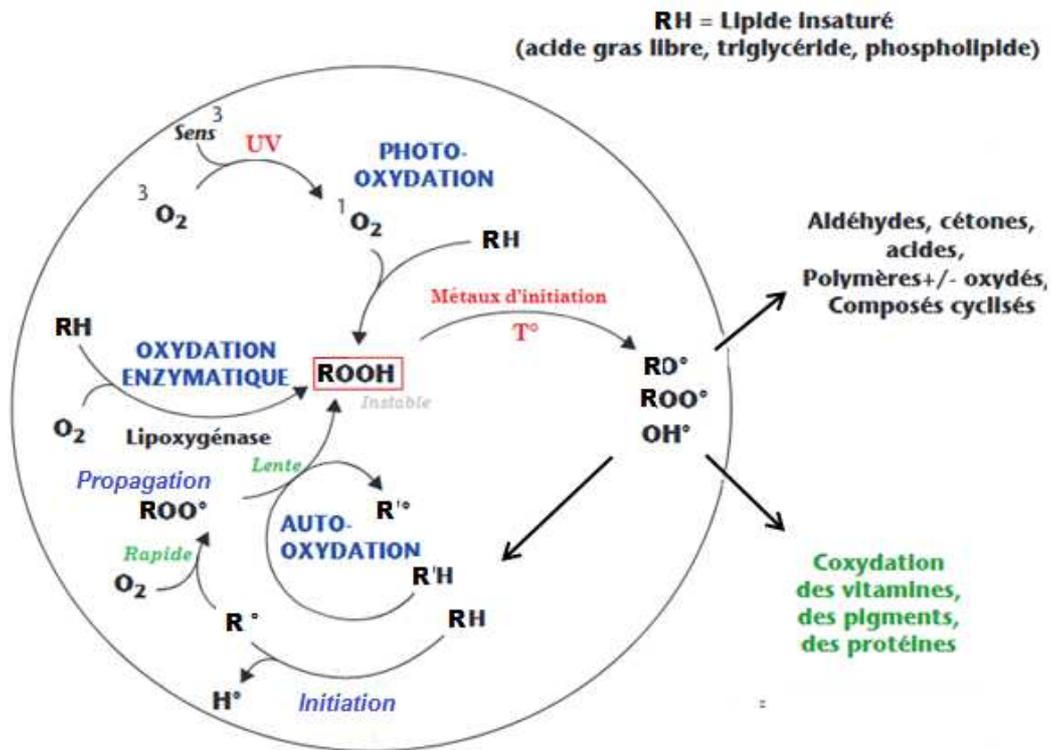
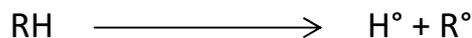


Figure 5. L'oxydation des lipides (Cuvelier et Maillard, 2012)

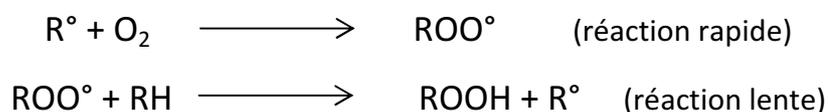
○ **Phase d'initiation**

Elle consiste en la soustraction d'un atome d'hydrogène à un groupement méthylène (- CH<sub>2</sub> -) d'un l'AGPI (RH) (Cillard et Cillard, 2006). Cette phase aboutit à la formation d'un radical libre (R°) (Bielsky et al., 1983).



○ **Phase de propagation**

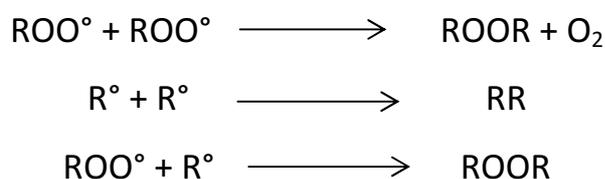
C'est une phase explosive d'amplification, durant laquelle le radical libre (R°) se combine avec l'oxygène moléculaire (O<sub>2</sub>) formant un radical libre peroxyde (ROO°) instable (Cillard et Cillard, 2006). Ce dernier, peut réagir à son tour avec une autre molécule d'AGPI pour former des hydroperoxydes (ROOH) et de nouveaux radicaux (R°) (Sevanian et Hoshstein, 1985).



Il est admis que chaque radical libre soit à l'origine d'une centaine de molécules d'hydroperoxydes avant que ne survienne la phase d'arrêt de la peroxydation lipidique. Cette étape de propagation peut se reproduire jusqu'à épuisement des AGPI (Frankel, 1984).

○ **Phase de terminaison**

Elle correspond à diverses réactions de couplage entre deux espèces radicalaires ( $\text{ROO}^\circ$  et  $\text{R}^\circ$ ) formant des produits non radicalaires et stables qui terminent la chaîne de réactions (Cillard et Cillard, 2006). Globalement, ce processus conduit à la formation des hydroperoxydes pendant les phases d'initiation et de propagation. Ces hydroperoxydes peuvent être dosés lors de l'évaluation de l'oxydation. Cependant, du fait qu'ils sont des composés instables qui se dissocient aboutissant notamment à la formation de composés secondaires, tels que des aldéhydes, des cétones, des alcools, des acides carboxyliques et des alcanes, ils ne représentent pas un critère pertinent pour déterminer l'état oxydatif du milieu (Halliwell, 1990).



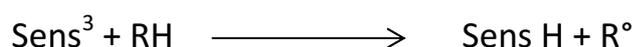
La formation des hydroperoxydes et des radicaux libres au cours de l'oxydation des lipides peut initier et favoriser l'auto-oxydation de lipides (German et Kinsella, 1985). Les hydroperoxydes sont sans goût et, par conséquent, l'indice de peroxyde largement utilisé pour déterminer l'état oxydatif n'a souvent que peu de relations avec les propriétés sensorielles (Ghaly et al., 2010).

**1.3.4.2.2. Photo-oxydation**

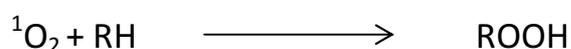
La photo-oxydation est une voie importante de production d'hydroperoxydes en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photosensibilisateurs tels que les hémoprotéines ou la riboflavine (Hultin, 1992).

Ces photosensibilisateurs absorbent l'énergie lumineuse et passent à l'état triplet excité ( $\text{Sens}^3$ ) (Hultin, 1994). Ils interviennent dans l'oxydation des lipides selon deux types de mécanismes (Frankel, 1996) ;

- Dans leur état triplet, les photosensibilisateurs de type I agissent comme radicaux libres initiateurs en arrachent un atome d'hydrogène ou un électron aux molécules lipidiques pour former un radical capable de réagir avec l'oxygène.



- Dans leur état excité, les photosensibilisateurs de type II, telles que l'érythrosine, réagissent dans leur état excité ( $\text{Sens}^3$ ) avec l'oxygène triplet ( $^3\text{O}_2$ ) auquel elles transfèrent leur énergie pour donner de l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ) qui est très électrophile et peut réagir directement sur un acide gras insaturé (RH) formant ainsi un hydroperoxyde (ROOH). Par la suite, les réactions radicalaires de l'auto-oxydation s'enchainent (Frankel, 1996).

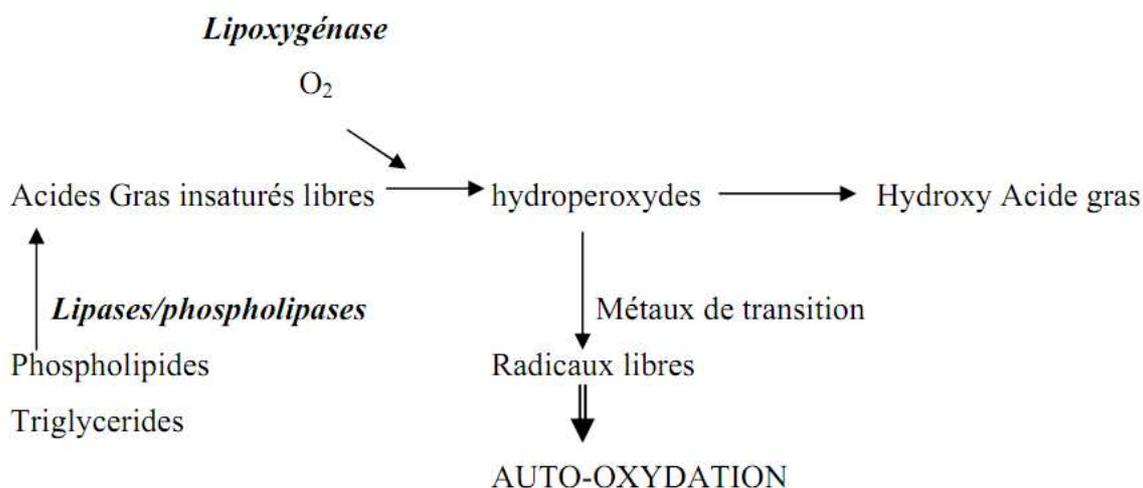


#### 1.3.4.2.3. Oxydation enzymatique

Les deux enzymes principalement impliquées dans le phénomène d'oxydation des AGPI sont la lipooxygénase et la cyclooxygénase (Hultin, 1994). La lipooxygénase agit spécifiquement sur les AGPI non estérifiés, comme l'acide arachidonique, l'EPA et le DHA, et catalyse l'incorporation d'une molécule d'oxygène aboutissant à la formation d'hydroperoxydes (figure 6). Son activité est souvent couplée avec celle des lipases et phospholipases (German et Kinsella, 1985). Alors que, la cyclooxygénase est une lipooxygénase qui catalyse l'insertion de deux molécules d'oxygène au niveau d'un acide gras pour former des hydroperoxydes spécifiques (Josephson et Lindsay, 1986).

L'oxydation enzymatique se produit même au cours du stockage basse température (Frankel, 1984). Cette activité enzymatique est surtout présente au niveau des branchies et

de la peau du poisson (German et Kinsella, 1985). Au cours de la période *post mortem* et de la transformation des poissons, des lipooxygénases sont libérées, aboutissant ainsi à la formation des hydroperoxydes dans les muscles en présence de cofacteurs et un pH situé entre 6 et 7. Ces hydroperoxydes participeront par la suite à l'initiation et à la propagation de l'oxydation (Rhee, 1988).



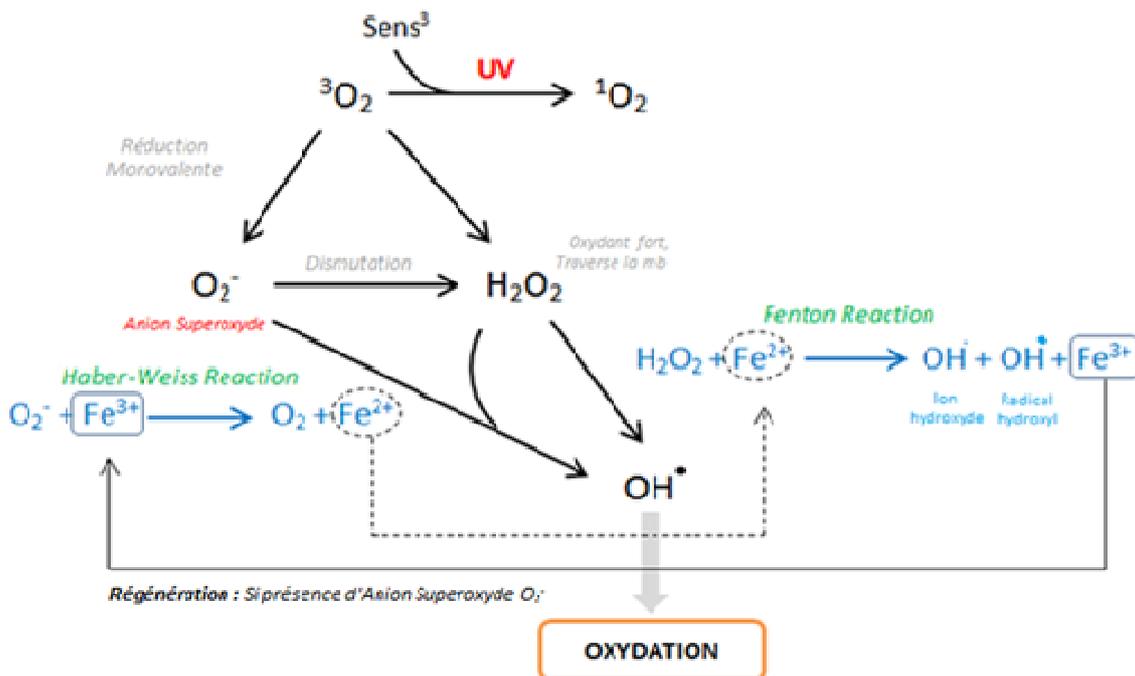
**Figure 6.** Mécanisme d'initiation de la peroxydation des lipides par l'activité lipoxygénasique (German et Kinsella, 1985)

#### 1.3.4.3. Facteurs influençant l'oxydation des lipides

L'oxydation des lipides est un facteur qui limite considérablement la durée de conservation des poissons. Les principaux facteurs susceptibles de favoriser l'oxydation de lipides sont: la nature et le degré de dispersion des lipides dans le poisson, le type métabolique des fibres musculaires, la pression partielle en oxygène, la présence de substances pro-oxydantes (ions métalliques et enzymes), le pH, la lumière, l'activité de l'eau et la température (Genot et al., 2003).

L'agent initiateur est l'élément clé qui provoque l'enchaînement des réactions radicalaires de la peroxydation lipidique. Les métaux de transition, largement représentés par le fer et le cuivre (Love, 1980) qui, à l'état libre, jouent un rôle capital dans la genèse des radicaux libres par les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss (figure 7) (Van Acker et al., 1995).

Les réactions d'oxydation initiées sont fortement ralenties quand l'activité de l'eau est inférieure à 0.8 (Frankel, 1994). Un pH acide favorise la réaction d'oxydation, en particulier quand les pro-oxydants sont présents (Genot et al., 2003). De même, la température l'initie en raison de son influence sur la solubilité de l'oxygène (Fernandez et Mackie, 1987).



**Figure 7.** Schématisation des réactions de Fenton et d'Haber-Weiss dans la genèse des radicaux libres (Lorient, 1998).

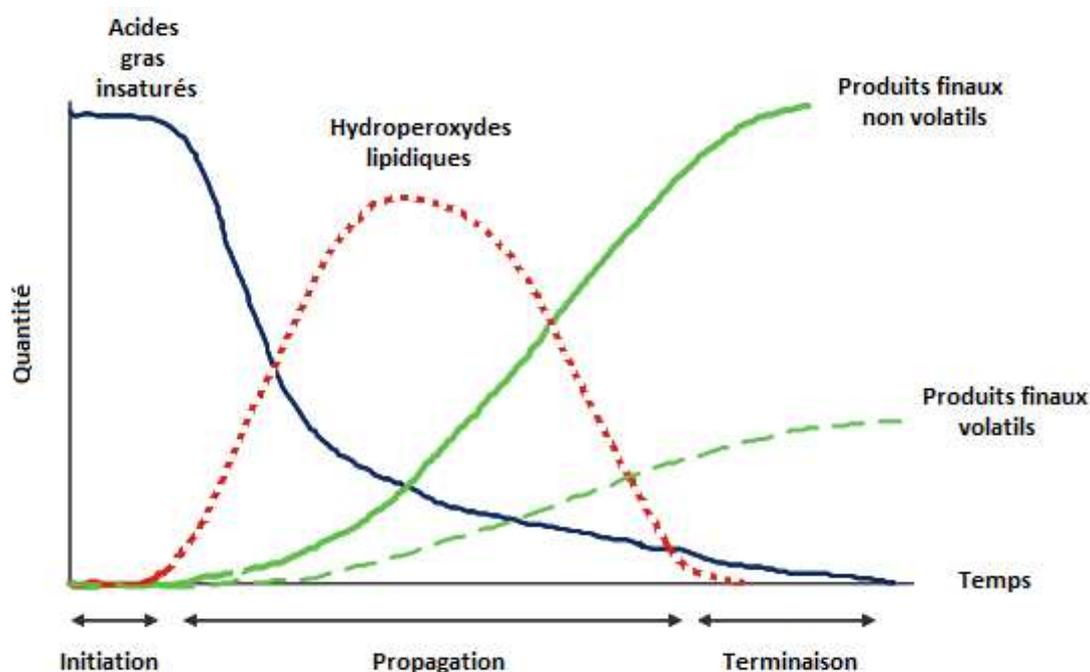
#### 1.3.4.4. Produits formés au cours de l'oxydation des lipides

L'oxydation des lipides de poisson conduit successivement à l'apparition de produits primaires et produits secondaires (figure 8).

##### 1.3.4.4.1. Produits primaires

Les produits primaires sont formés au cours des phases d'initiation et de propagation des réactions d'oxydation des lipides de poisson : Les radicaux libres sont des composés cytotoxiques susceptibles d'induire des altérations des molécules d'ADN et des protéines, Les diènes conjugués sont formés par réarrangement des doubles liaisons du radical lipoyde des

AGPI et les hydroperoxydes sont des produits intermédiaires de l'oxydation des lipides, ils sont sans odeur spécifique et se décomposent rapidement (Kanazawa et al., 2000).



**Figure 8.** Evolution schématique de l'auto-oxydation des acides gras insaturés au cours du temps (Cuvelier et Maillard, 2012).

#### 1.3.4.4.2. Produits secondaires

Les produits primaires sont très instables, très réactifs et rapidement décomposés en produits secondaires souvent volatils responsables des odeurs caractéristiques de lipides oxydés (odeur d'herbe coupée) des poissons frais. Ces composés carbonylés (aldéhydes, cétones, alcools) sont issus de la dégradation des AGPI probablement par voie enzymatique (Josephson et al., 1984).

Les interactions entre les produits issus de l'oxydation des lipides et les protéines conduisent à la formation de différents composés possédant des propriétés fluorescentes tels que les imines, les bases de Schiff, etc. (Gardner, 1979). Ce qui fait que ces interactions ont un impact important sur la dégradation des propriétés sensorielles et nutritionnelles des poissons (Pokorny, 1977).

## 1.4. Facteurs influençant la qualité et la durée de conservation du poisson réfrigéré

### 1.4.1. Température de conservation

Les activités enzymatique et microbiologique dans la chair de poisson sont très influencées par les variations de température. Cependant, si la température est élevée, l'activité microbienne, responsable de l'altération de la plupart des poissons frais, est relativement plus importante. L'allongement de leur durée de conservation est conditionné à leurs conservations à basse température (Huss, 1999).

Le refroidissement rapide et précoce est crucial pour la conservation des poissons. Il a été constaté que si le poisson maigre entre en *rigor-mortis* à des températures supérieures à +17 °C, le tissu musculaire peut se déchirer du fait d'importantes contractions musculaires et de l'affaiblissement du tissu conjonctif. La chair se détachent, l'apparence du produit est détruite et le filetage du poisson devient alors difficile (Love, 1973).

### 1.4.2. Hygiène lors de la manutention

La manutention hygiénique du poisson dès sa capture assure une bonne qualité et une longue conservation du produit. Huss et al. (1974) ont comparé, par différentes pratiques d'hygiène, l'importance de l'hygiène pendant la manutention des poissons à bord sur la qualité et la durée de conservation de poisson manutentionné aseptiquement avec du poisson traité sans précautions particulières et rapportent une différence importante de contamination bactérienne au cours de la seconde semaine de conservation. Le niveau de contamination est devenu important dans le lot dont la manutention était impropre par rapport au lot hygiéniquement stocké, ainsi que le temps de conservation du poisson fortement contaminé a diminué de quelques jours.

Le poisson réfrigéré est conservé sous glace dans des caisses empilées les unes sur les autres. Il a été suggéré que ces caisses devaient être conçues pour éviter le ruissellement de l'eau de fonte de la glace d'une caisse supérieure à une caisse inférieure. Ceci permettrait de diminuer la contamination bactérienne du poisson par l'eau de fusion qui serait chargée de bactéries (Huss, 1999).

### **1.4.3. Espèce, taille, manutention et propriétés de la peau de poisson**

La vitesse d'altération et la durée de conservation du poisson sont affectées par de nombreux paramètres tels que l'espèce, la taille, la manutention, les propriétés de la peau, le lieu et la saison de la pêche du poisson. En général, les poissons les plus gros se dégradent plus lentement que les plus petits, les poissons plats se conservent mieux que les poissons ronds et les poissons maigres restent comestibles plus longtemps que les poissons gras en aérobiose; de même, les poissons osseux se gardent plus longtemps que les cartilagineux (Huss, 1999).

La peau des poissons pélagiques gras est souvent très mince, les enzymes et les bactéries peuvent y pénétrer entraînant une altération rapide. Cependant, la peau épaisse des poissons plats, ainsi que la présence d'antibactériens, d'anticorps et d'enzymes bactériolytiques dans leur mucus peuvent contribuer à leur bonne conservation (Hjelmland et al., 1983; Murray et Fletcher, 1976).

### **1.4.4. Eviscération**

L'éviscération élimine une source de contamination très importante et prévient la décomposition autolytique dû aux enzymes digestives (Shewan, 1961). En effet, la qualité et la durée de conservation des poissons diminuent si ces derniers n'ont pas été éviscérés, car le système digestif du poisson renferme de nombreuses bactéries avec une production accrue d'enzymes digestives créant une autolyse viscérale prononcée post mortem et conduit à l'éclatement du ventre avec une production d'une saveur désagréable spécialement dans la région abdominale (Huss, 1999).

Cependant, la cavité abdominale et les surfaces découvertes par l'éviscération sont susceptibles à l'oxydation et à la décoloration car elles sont exposées à l'air. De ce fait, il faut prendre en considération quelques facteurs tels que l'âge et l'espèce du poisson, son taux de lipides, les zones et les méthodes de pêche avant de décider s'il vaut mieux l'éviscérer ou non (Huss, 1999).

L'éviscération des espèces grasses de petite et de moyenne taille n'est pas effectuée immédiatement après leur capture afin d'éviter les risques de décoloration et d'accélération

du rancissement, ainsi qu'ils sont pêchés en grandes quantités. Cependant, des problèmes tels que l'éclatement du ventre, peuvent se présenter avec du poisson non éviscérés durant les périodes de forte alimentation. Par contre, l'éviscération des espèces maigres est obligatoire en général car la qualité et la durée de conservation de ces espèces se dégradent si elles ne sont pas éviscérées. Il a été prouvé qu'un poisson non éviscéré subissait une perte importante de qualité avec une décoloration visible de la zone abdominale et un dégagement d'une forte odeur de chou (Huss et Ajenso, 1976).

#### **1.4.5. Filetage**

Le filetage est une opération pratiquée après écaillage et éviscération et consiste à séparer les masses musculaires de l'arête de façon à prélever deux masses musculaires de part et d'autre de la colonne vertébrale (Assogba et al. 2018). En Europe, le filet est la partie du poisson essentiellement commercialisé. Dans certains pays, cette transformation est rare, le poisson frais est vendu entier ou éviscéré. Cette pratique est due à des habitudes alimentaires et culinaires et à une absence de normes spécifiques (Assogba et al. 2018). Le rendement varie en fonction de l'espèce, de la taille, du poids, de l'âge, de la saison, de la souche, du sexe, de la morphologie et de l'alimentation (Ducarme et Micha, 2003 ; Rora et al. 2001).

L'effet du moment de filetage (en *pré-rigor*, en *rigor* et en *post-rigor*) et l'application de la glace sur les paramètres de qualité des filets de saumon Atlantique au cours de l'entreposage réfrigéré a été étudié par Rosnes et al. (2003). Leurs résultats montrent que le filetage seul n'améliore pas la durée de vie comparativement aux échantillons entiers conservés sous la glace. Cependant, le filetage en *pré-rigor* serait une alternative préférable au filetage traditionnel *post-rigor*.

#### **1.4.6. Emballage sous vide**

Certes, les produits emballés sont de produits faciles à manipuler et sont à l'abri des contaminations. Les procédés d'emballage sous film plastique imperméable aux gaz, aux liquides et à pression réduite comme l'emballage sous vide (ESV) ou sous atmosphère modifiée (EAM) qui utilise des niveaux élevés de CO<sub>2</sub> (de 25 à 100 %), prolongent la durée de conservation des produits carnés de plusieurs jours ou semaines (Tableau 5). Inversement, la

durée de conservation du poisson frais n'est pas affectée par l'ESV et on obtient seulement une augmentation de la durée de conservation par EAM (Huss, 1999).

Le conditionnement sous vide agit de deux façons sur la microflore :

- **Action inhibitrice** : La pression partielle en oxygène ( $O_2$ ) est très faible, ceci provoque une inhibition de la flore totale, très marquée surtout pour les germes aérobies d'altération superficielle, *Pseudomonas* en particulier (Valin et Lacourt, 1980). Cependant, la quantité de gaz carbonique ( $CO_2$ ) augmente au cours du temps (respiration tissulaire surtout), ce qui exerce une action déterminante sur ces germes en agissant comme bactériostatique aux basses températures (Bureau et al, 1987).
- **Action sélective** : La multiplication des bactéries anaérobies strictes, bactéries lactiques et Entérobactéries est notable (Valin et Lacourt, 1980). Les Staphylocoques sont très ralentis et seraient inhibés par les germes lactiques (Kennedy et al, 1980).

**Tableau 5.** Effet de l'emballage sur la durée de conservation du poisson et des produits carnés réfrigérés (Huss, 1999).

Type de produit	Température de stockage	Durée de conservation (semaines)		
		Air	ESV	EAM
<b>Viande</b>				
Bœuf, volaille	1.0 à 4.4 °C	1 - 3	2 - 12	3 - 21
<b>Poisson maigre</b>				
Cabillaud, loup	0.0 à 4.0 °C	1 - 2	1 - 2	2 - 4
<b>Poisson gras</b>				
Saumon, truite	0.0 à 4.0 °C	1 - 2	1 - 2	2 - 4

La conservation sous vide ne semble pas favoriser les Salmonelles, lors du stockage au froid (Kennedy et al, 1980) : leur vitesse de multiplication est lente au froid et en anaérobie, mais elle peut être suffisante pour être responsable, après un stockage prolongé, de putréfaction (Rosset et Lameloise, 1989).

*Clostridium botulinum*, germe anaérobie stricte, peut se développer jusqu'à +4 °C. Cependant, la production de toxine est très ralentie au-dessous de + 10 °C : elle ne commence qu'au bout de 14 jours à + 10 °C et l'altération organoleptique intervient avant que des quantités notables de toxine soient produites (Davis, 1985 ; Gola et Rossi, 1985). En outre, en cas de rupture de la chaîne du froid la dégradation des qualités organoleptiques est telle que la consommation du produit est impossible (aspect et odeur désagréables) (Hauschild et al, 1985).

Il en ressort que le conditionnement sous vide doit s'accompagner d'une baisse de la température en dessous de + 4 °C pour limiter le risque des pathogènes et que le vide d'air par lui-même ne constitue pas un procédé de conservation. Il n'est qu'un adjuvant aux méthodes de conservation qui existent.

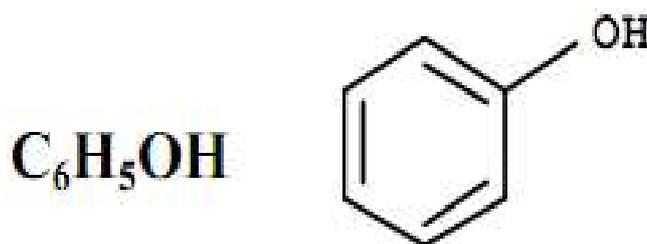
#### **1.4.7. Lumière**

La lumière (les ultraviolets) joue le rôle d'accélérateur des cinétiques des réactions d'oxydation dont les mécanismes chimiques restent les mêmes. Elle intervient dans la photooxydation qui constitue une voie importante de production d'hydroperoxydes en présence d'oxygène et de photosensibilisateurs (Hultin, 1992).

## 2.1. Généralités sur les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires qui forment le groupe des molécules organiques phytochimiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (Lutge et al., 2002 ; Abderrazak et Joël., 2007). Plus de 8000 structures phénoliques sont présents dans tous les organes des plantes (Beta et al., 2005 ; Lugasi et al ., 2003).

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzoïque (figure 9) auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre, etc.) (Bruneton, 1993 ; Lugasi et al ., 2003).



**Figure 9.** Formule chimique brute d'une fonction phénol (Achat, 2013).

Cependant, comme ces composés chimiques sont présents dans d'autres composés tels que certaines protéines et hormones. Les composés phénoliques des plantes sont alors décrits comme les substances dérivées de la voie métabolique de l'acide shikimique (Robards et al., 1999). Le terme de polyphénols est souvent consacré par l'usage pour désigner les composés phénoliques.

Dans la cellule, les composés phénoliques sont essentiellement localisés sous forme soluble dans les vacuoles et les parois végétales : c'est le cas de la lignine (hétéropolymère d'alcools coniférylique et p-coumarylique) ou de certains flavonoïdes (Robards et al., 1999 ; Macheix et al., 2003).

## 2.2. Classification

Les composés phénoliques des plantes sont répartis en différentes classes selon la structure de leur squelette de base (Harborne et Simmonds, 1964). En se basant sur le nombre du carbone de la molécule, les composés phénoliques peuvent être classés en différents groupes.

Les principales classes de composants phénoliques sont: les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (King et Young, 1999 ; Tapiero et al., 2002). Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux: racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

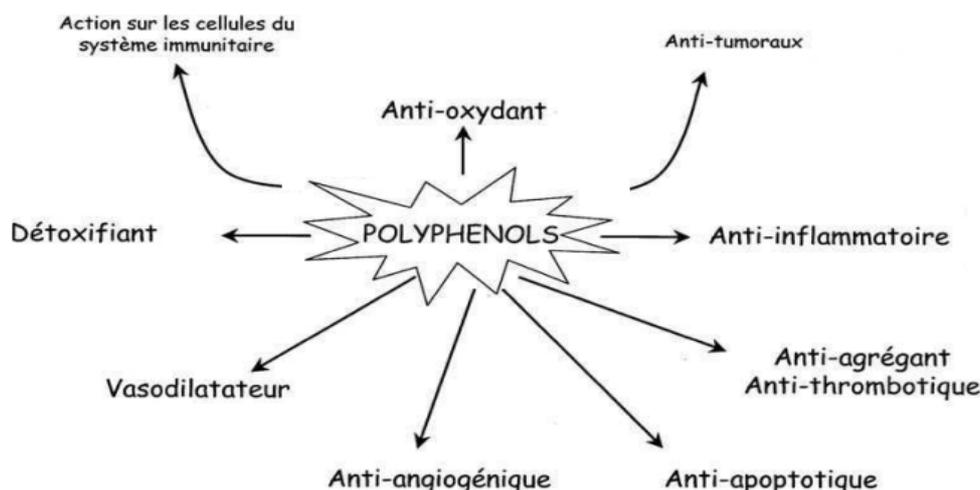
## 2.3. Activités biologiques

Les composés phénoliques sont connus par leurs rôles physiologiques très important aussi bien dans le règne végétal qu'animal. En raison de leur structure, les composés phénoliques sont capables de se fixer sur certaines enzymes et protéines, et de modifier ainsi les équilibres enzymatiques : ils jouent un rôle dans les métabolismes d'oxydo-réduction et modifient certaines réactions concernant la croissance, la respiration et la morphogénèse (Lo Scalzo et al., 2004).

Dans le règne végétal, ces substances sont souvent impliquées dans les mécanismes de défenses élaborés par les végétaux contre les prédateurs : insectes, herbivores et contre les infections et les agressions microbiennes multiples (Uccella, 2001). Outre, les composés phénoliques sont associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation, dormance des bourgeons, floraison, tubérisation, etc. (Ozkaya et Celik, 1999). Les composés phénoliques sont aussi responsable des propriétés sensorielles des plantes tel que la couleur, le goût et parfois l'odeur (Malik et Bradford, 2006).

En phytothérapie, l'effet de nombreuses plantes médicinales est attribué en tout ou en partie aux composés phénoliques dans ces plantes. Ces substances possèdent des activités biologiques bénéfiques à la santé humaine (figure 10). Plusieurs études montrent que les polyphénols pourraient diminuer le risque de survenue de certaines pathologies, en particu-

lier celles liées au vieillissement et aux lésions oxydatives (cancers, maladies cardiovasculaires ou neurodégénératives) (Leong et Shui, 2002).



**Figure 10.** Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

Les activités biologiques relatives à ces composés sont relativement diversifiées. Chaque classe chimique de polyphénols semble être utilisée pour ses vertus spécifiques (Martin et Andriantsitohaina, 2002). Les composés phénoliques sont principalement reconnus pour leur activité antimicrobienne et antioxydante, cette dernière est d'un intérêt général avec les découvertes sur la prévention des cancers (Karakaya, 2004). Certains d'entre eux, tel que les coumarines, possèdent des propriétés anti-inflammatoires (Fylaktakidou et al., 2004). D'autres, tel que les lignanes, possèdent des propriétés cytostatiques (Habtemariam, 2003). Les flavonoïdes, une vaste famille de composés phénoliques, protègent les tissus végétaux contre les rayons UV. La principale activité leur étant attribuée est une propriété « Vitaminique P » : ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et les rendent plus résistants. Certains possèdent également des propriétés anti-inflammatoires, anti-allergiques, hépatoprotecteurs, antispasmodiques, hypocholestérolémiants, diurétiques, antibactériens, antiviraux (Fuhrman et al., 1995). Ils agissent aussi parfois comme piègeurs de radicaux libres et comme inhibiteurs enzymatiques. Les composés des autres familles de ce groupe (anthocyanosides, tannins et poly acétates) présentent fréquemment des proprié-

tés thérapeutiques similaires à celles des flavonoïdes et des composés phénoliques en général (Bruneton, 1993).

Dans les domaines agro-alimentaires, les composés phénoliques ou leurs composés actifs pourraient être employés comme agents antioxydants et agents de protection contre les champignons phyto-pathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires. Ils possèdent des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens.

Les plantes les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes, antioxydantes et antifongiques appartiennent à la famille des *Lamiaceae*: origan, thym, romarin, menthe, sauge, clou de girofle, etc. et sont d'autant des plantes aromatiques riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol (Pauli, 2001).

### **2.3.1. Effets antimicrobiens**

#### **2.3.1.1. Généralités**

Les effets antimicrobiens des composés phénoliques contenus dans les plantes sont connus depuis longtemps. Ainsi, ils peuvent donc servir d'agents de conservation alimentaires, et ce d'autant plus qu'ils sont pour la plupart classés "généralement reconnus comme sains" (Generally Recognized As Safe « GRAS »), ou approuvés comme additifs alimentaires par la "Food and Drug Administration" et par conséquent, ils n'ont pas besoin d'autorisation d'emploi dans les aliments (Caillet et Lacroix, 2007).

Les composés phénoliques possèdent un spectre d'activité très large puisqu'ils inhibent la croissance de la plus part des microorganismes : aussi bien celle des bactéries que celle des levures, des moisissures et des champignons (Jurgen et al., 2009).

Les composés phénoliques agissent en empêchant la sporulation et la multiplication des bactéries et la synthèse de leurs toxines (Nelson, 1997). Chez les levures, ils agissent sur la biomasse et la production des pseudo mycéliums (Edris, 2007) alors que pour les moisissures, ils inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines (Sipailiene et al., 2006).

### **2.3.1.2. Mécanismes d'action**

Les mécanismes par lesquels les extraits phénoliques exercent leur activité antibactérienne restent moins clairs et ne peut-être attribuable à un mécanisme unique (Dorman et Deans, 2000) du fait de la complexité de leur composition chimique qui présente une diversité de molécules pouvant agir chacune sur une cible différente (Tiwari et al., 2009)

Par ailleurs, divers mécanismes antibactériens des composés phénoliques ont été décrits. Les composants des extraits phénoliques sont hydrophobes et lipophiles ce qui leur permet de traverser facilement la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire (Burt, 2004) et d'induire une perturbation des structures bactériennes en agissant sur la membrane cellulaire perturbant ainsi la production de l'énergie, le processus de transduction d'énergie couplé à la membrane et les systèmes de transport ionique (Oussalah et al., 2006 ; Bouyahya et al., 2017) et en entraînant une altération de la perméabilité due à une incapacité à séparer les composés phénoliques de la membrane bactérienne (Bouhdid et al., 2010). En outre, ils sont capables d'inhiber la multiplication bactérienne par l'inhibition de l'assemblage du complexe FtsZ (un régulateur de division cellulaire chez les procaryotes) (Domadia et al., 2007).

En général, les bactéries Gram négatif sont plus résistantes que les bactéries Gram positif parce que la membrane extérieure des Gram négatifs est plus riche en lipopolysaccharides (LPS) la rendant plus hydrophile, ce qui empêche les composés phénoliques d'y adhérer (Cristiani et al., 2007).

### **2.3.2. Effets antioxydants**

#### **2.3.2.1. Définition**

D'une manière générale, un antioxydant est une substance, présente en quantité relativement faible comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient significativement l'oxydation de ce substrat (Halliwell, 1990). Ces antioxydants peuvent être de nature enzymatique (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase) ou non enzymatique (vitamine E, vitamine C) (Comhair et Erzurums, 2002 ; Droge, 2002), naturels ou de synthèse.

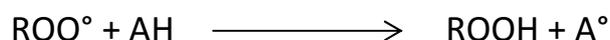
Les antioxydants sont naturellement présents dans presque toutes les plantes, microorganismes et même dans les tissus des animaux (Pelli et Lyly, 2003). Les antioxydants alimentaires sont des composés chimiques capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique et être sans effet sur les propriétés sensorielles et nutritionnelles du produit alimentaire. Ce type d'antioxydants permet le maintien de la qualité et l'augmentation de la durée de conservation du produit. Idéalement, les antioxydants alimentaires doivent être non toxiques, liposolubles, efficaces à faible dose, n'entraînent ni coloration, ni d'odeur, ni saveur indésirable, résistants aux processus technologiques et stables dans le produit fini (Pokorny et al., 2001).

### 2.3.2.2. Mécanismes d'action

Selon Buettner (1993), les antioxydants susceptibles de protéger les lipides de l'oxydation peuvent être réparti en antioxydants préventifs qui empêchent la formation d'espèces réactives de l'oxygène ou interceptent les espèces responsables de l'initiation de la lipoperoxydation et les antioxydants « chain breaking » qui interceptent les radicaux propagateurs de la peroxydation lipidique et retardent la peroxydation (période d'induction).

#### 2.3.2.2.1. Antioxydants de type I

Ce sont des substances capables d'inactiver les radicaux libres en inhibant la propagation des réactions radicalaires en cédant une molécule d'hydrogène ( $H^\circ$ ) à un radical libre lipidique présent : alkyl peroxydes ( $ROO^\circ$ ) et alkoxydes ( $RO^\circ$ ) (Nik, 1987).



(AH : antioxydant et  $A^\circ$  : radical de l'antioxydant)

Les radicaux  $A^\circ$  qui se forment sont relativement stables et ne possèdent pas l'énergie suffisante pour arracher un hydrogène aux lipides, la propagation s'arrête alors (Pincemail et al., 1998).

#### **2.3.2.2.2. Antioxydants de type II**

Ce type d'antioxydant prévient la formation des radicaux libres et peut intervenir par différents mécanismes. Ceci peut être effectué par captage de l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ). L'acide ascorbique (vitamine C) est considéré comme un puissant réducteur et peut devenir pro-oxydant à forte dose et en présence de métaux de transition telle que le fer (Puppo, 1992).

#### **2.3.2.2.3. Antioxydants de type III**

Ils regroupent les facteurs de l'environnement qui ont une action antioxydante en agissant sur le potentiel redox du milieu, la température, la pression en oxygène, la lumière. L'emballage des produits permet ainsi de minimiser l'exposition à l'air et à la lumière. La mise sous vide permet de limiter les réactions d'oxydation et donc de prolonger la durée de vie des produits. L'emballage peut également être réalisé sous atmosphère modifiée ( $\text{N}_2$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ) (Cillard et Cillard, 2006).

### **2.4. Méthodes d'extraction**

Les extraits phénoliques de plantes sont toujours un mélange de différentes classes de phénols, qui sont sélectivement solubles dans les solvants (Rajbhar et al, 2015).

L'extraction solide/liquide de métabolites est une extraction par diffusion, elle permet de séparer les composés extractibles solubles d'une matrice solide, formée par les tissus végétaux, à l'aide d'une phase liquide, le solvant (Escribano-Bailon et Santos-Buelga, 2003). La diffusion est un phénomène de transport irréversible qui se traduit par la migration des espèces chimiques des zones de forte concentration vers celles de faible concentration par un déplacement de constituants de la matrice végétale vers le solvant (Fischbarg, 2010).

Différentes méthodes d'extraction des polyphénols ont été rapportées; ceux-ci incluent l'extraction conventionnelle par macération, l'extraction par micro-ondes, l'extraction par ultrasons, l'extraction par Soxhlet, l'extraction par reflux thermique et l'extraction par ultra-haute pression (Kumar et al. 2012).

L'extraction des composés phénoliques est influencée par la taille des particules, le type de solvant, sa polarité, sa concentration, le pH, la durée et la température d'extraction, la présence de substances interférentes, ainsi que par la composition chimique et des caractéristiques physiques des échantillons (Wissam et al., 2012 ; Maja et al., 2013 ; Nihal et al., 2007).

L'extraction chimique est réalisée en utilisant de l'eau, des solvants organiques polaires tels que le méthanol, l'éthanol, l'acéto-nitrile et l'acétone, ou leur mélange aqueux. Ils sont plus stables à pH acides, ce qui permet de les extraire facilement dans ces solvants organiques (Roy et al. 2001 ; Khoddami et al. 2013). L'éthanol est souvent utilisé pour l'extraction de composés phénoliques dans l'industrie agroalimentaire du fait de sa moindre toxicité (Franco et al., 2008 ; Ignat et al. 2011), il permet aussi une extraction beaucoup plus satisfaisante car les polyphénols sont associés à d'autres biomolécules telles que des protéines, des polysaccharides, des terpènes, de la chlorophylle et des lipides (Koffi et al. 2010). Cependant, les mélanges aqueux de méthanol ou d'acétone sont de bons solvants pour les polyphénols polaires, mais des résidus indésirables peuvent être présents dans les extraits (Maja et al. 2013).

Une durée d'extraction plus longue donne de meilleurs résultats lorsque des températures comprises entre +20 et +40 °C sont appliquées (Karishma et al, 2015). L'utilisation de températures élevées augmente l'efficacité de l'extraction car la chaleur augmente la solubilité des composés et rend les parois cellulaires perméables. Toutefois, la stabilité des composés phénoliques est affectée par la température ; des températures supérieures à +50 °C réduit le rendement total en polyphénols ce qui est probablement dû à leur dégradation thermique (Renoe, 1994 ; Lafka et al., 2007). Cependant, l'étude de l'influence du ratio solide-liquide sur l'extraction des composés phénoliques donnent des résultats assez contradictoires. Certains auteurs préconisent que le ratio matière / solvant n'a pas beaucoup d'effet sur le rendement de l'extraction (Quan et al., 2006) alors que d'autres montrent que plus le ratio liquide-solide est élevé, meilleure sera l'extraction des polyphénols (Bucic-Kojic et al., 2007).

## **Partie expérimentale**

## Problématique

L'un des principaux problèmes de l'industrie de la pêche est d'assurer une bonne conservation du poisson, car c'est un aliment riche en acides gras, et il est hautement périssable et rapidement altérable en raison de la présence simultanée de la croissance microbienne et de l'oxydation des lipides qui sont des problèmes très redoutés (Jeyasekaran et al., 2006). Le développement de procédés de conservation du poisson est motivé par la nécessité de retarder la croissance microbienne et de conserver la stabilité de l'oxydation des lipides, ce qui pourrait induire l'allongement de la durée de conservation du poisson et des produits de la pêche.

Les basses températures sont utilisées traditionnellement pour améliorer la conservation du poisson et préserver sa qualité. Cependant, celles-ci présentent différents inconvénients tels que la déshydratation, la dureté de la texture, la décoloration, la perte d'éléments nutritifs et le développement d'odeurs désagréables (Putro, 1989).

Le problème majeur observé chez les poissons durant leur stockage à basse température est l'oxydation des lipides, ce processus ne peut être arrêté une fois amorcé, et il est d'autant plus intense que le poisson fileté présente une surface accrue en contact avec l'oxygène. Par conséquent, il est nécessaire de développer des méthodes efficaces de conservation des produits de la pêche pour éviter leur détérioration et maintenir la qualité du poisson, ce qui permet de conserver leur couleur, leur texture et leur saveur d'origine pendant une plus longue période (Jeyasekaran et al., 2006).

Différentes stratégies sont employées dans le but de contrôler la qualité des poissons. L'emballage sous vide est l'une des méthodes de conservation les plus utilisées et fournit un environnement sans oxygène. L'effet conservateur de cet emballage est principalement dû à la limitation de l'oxydation des lipides et à l'inhibition de la croissance de nombreux organismes nuisibles.

L'application d'antioxydants, tels que le butylehydroxyanisole (BHA) et le butylehydroxytoluène (BHT), permet également de retarder ou minimiser les problèmes liés à

l'oxydation des lipides du poisson et des produits de la pêche. Cependant, ces antioxydants synthétiques sont rejetés en raison de leur toxicité.

Ainsi, un intérêt majeur a été manifesté ces dernières années pour les antioxydants contenus dans les extraits éthanoliques de plantes reconnues comme produits naturels sains et approuvés comme additifs alimentaires par l'administration Américaine des Aliments et des Médicaments, FDA (Food Drug Administration). Ces substances naturelles constituent sans doute une alternative très prometteuse pour augmenter la salubrité des produits de la mer, réduire l'auto-oxydation et l'incidence de bactéries d'altération et pathogènes, ce qui, associé à d'autres méthodes de conservation, telles que les basses températures et l'emballage sous-vide pourrait constituer un procédé intéressant pour améliorer la durée de conservation du poisson et des produits de la pêche.

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail de recherche qui a pour but d'évaluer l'effet de l'application d'extrait d'origan sur les paramètres de qualité des filets du thon frégate conservés dans l'emballage sous vide à température de réfrigération.

Pour mener à bien ce travail, nous avons évalué dans une première partie la teneur en polyphénols, la teneur en flavonoïdes et l'activité antioxydante de l'extrait naturel d'origan. Dans la deuxième partie, nous avons étudié l'effet de l'application de cet extrait d'origan sur les paramètres de qualité des filets du thon frégate (*Auxis thazard*) conservés dans un emballage sous vide à température de réfrigération pour une période extrême de 18 jours (figure 11).

**Partie 1.**

**Extraction et évaluation des composés phénoliques, des flavonoïdes et de l'activité antioxydante de l'extrait naturel d'origan**

— **Matériel végétal :** *Origanum majorana* L. (Origan)

— **Préparation des extraits bruts :** Macération

— **Détermination du rendement d'extraction**

— Evaluation de la **teneur en polyphénols totaux** de l'extrait

— Evaluation de la **teneur en flavonoïdes totaux** de l'extrait

— Evaluation de la **l'activité antioxydante** de l'extrait

**Partie 2.**

**Effet de l'application de l'extrait d'origan sur les paramètres de qualité des filets du thon frégate conservés dans l'emballage sous vide à température de réfrigération**

— **Matériel animal :** *Auxis thazard* (Thon frégate)

— **Préparation des filets et des lots de poisson:** lot témoin et lot traité avec l'extrait

— **Emballage** sous vide

— **Conservation** à température de réfrigération

— **Analyse sensorielle des filets :** cru et cuit

— **Analyses physico-chimiques des filets :**

pH, dosage de l'azote basique volatil total (ABVT), des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (SR-ATB), de l'indice de peroxyde (IP) et des acides gras libres (AGL)

— **Analyses microbiologiques des filets :**

Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT) : ISO 4833-2 (2013) et des bactéries psychrotrophes : ISO 17410 (2001)

— **Analyse du profil de texture :**

Détermination de la dureté, de la compression, de l'adhérence, de la résilience et de la mâchabilité

**Figure 11:** Différentes étapes de l'étude expérimentale.

## **Partie 1. Extraction et évaluation des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes et de l'activité antioxydante de l'extrait naturel d'origan**

### **1.1. Objectifs**

Les plantes aromatiques et médicinales constituent une richesse naturelle très importante. Les extraits d'origan ont suscité l'intérêt des chercheurs comme agents antimicrobiens et antioxydants naturels. Ils renferment de fortes concentrations en composés phénoliques tels que le carvacrol, le thymol et l'eugénol, qui sont particulièrement utilisés comme antioxydants dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé (Hirasa & Takemasa, 1998).

L'objectif de cette première partie expérimentale qui s'inscrit dans le cadre de l'exploration des ressources naturelles et de la valorisation de la flore Algérienne, consiste à tester une technique d'extraction des composés phénoliques contenus dans les parties aériennes de l'origan par macération solide/liquide, à l'évaluation du contenu en polyphénols et en flavonoïdes totaux et à évaluer l'activité antioxydante de cet extrait.

### **1.2. Matériel et méthodes**

#### **1.2.1. Présentation du matériel végétal et préparation de l'extrait phénolique**

Environ 3 Kg de matières végétales (origan) nouvellement récoltées ont été achetées au mois de Janvier au niveau du marché local de la ville de Djelfa et ont été identifiées sur le plan botanique comme étant *Origanum majorana* L.. Les parties aériennes fraîches d'origan ont été nettoyées, lavées et séchées à l'obscurité à l'abri de l'humidité à température ambiante (< +30 °C) dans le but de préserver au maximum leur intégrité moléculaire (Catier et Roux, 2007). Les matières végétales séchées ont été broyées individuellement pour obtenir une poudre fine et homogène (taille des particules = 500 µm, ISO., 1999). Sous cette forme broyée, la poudre présentera une plus grande surface de contact avec le solvant choisi, permettant ainsi d'améliorer le rendement de l'extraction.

L'extraction employée est une méthode d'extraction de routine dite macération (extraction solide-liquide), elle consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans un

solvant pendant une période donnée, pour extraire les composés actifs (Hamia et al., 2014). L'extraction a été effectuée selon la méthode indiquée par Kenar et al. (2010) avec quelques modifications ;

Le broyat est macéré dans de l'éthanol absolu (ratio poids/volume : 1 /5) pendant 24 h à température ambiante. Ensuite, le mélange est filtré sur papier Whatman n°1 (Whatman International Ltd, Angleterre). Après filtration, le charbon actif est ajouté au filtrat (20 g de charbon actif/100 g de matériel végétal) puis éliminé immédiatement du filtrat à l'aide d'un papier de filtration Whatman n°1. Ensuite, tout l'éthanol est évaporé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor) à  $+50 \pm 1$  °C. L'extrait est pesé et traité à la lumière UV (30W, distance d'irradiation de 50 cm) pendant 30 minutes pour réduire la microflore naturellement existante. L'extrait est ensuite dissous de nouveau dans un petit volume d'éthanol absolu (pour dissoudre les composants liposolubles) et stocké dans un flacon dans l'obscurité à - 18 °C jusqu'à l'utilisation.

Le rendement exprimé en pourcentage (%) est calculé par la formule suivante :

$$R = (P_e / P_v) \cdot 100$$

Ou :

R : représente le rendement de l'extraction en %,

$P_e$  : le poids de l'extrait éthanolique après évaporation du solvant en gramme,

$P_v$  : le poids de la matière végétale utilisée pour l'extraction exprimé en gramme.

Trois répétitions ont été appliquées pour chaque extraction et la moyenne fut considérée.

### 1.2.2. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

Le réactif de Folin-Ciocalteu, composé de mélange de l'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et de l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ), est réduit en présence de polyphénols totaux en un mélange d'oxydes bleu de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène

( $\text{Mo}_8\text{O}_{23}$ ). La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de polyphénols totaux présents dans le milieu réactionnel (Ribéreau-Gayon, 1968 ; Lapornik et al., 2005).

La détermination de la concentration des phénols totaux dans l'extrait éthanolique d'origan a été réalisée en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu, telle que décrite par Waterhouse (2002), avec quelques modifications mineures ;

Une solution saturée de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) a été préparée en dissolvant 20.g de carbonate de sodium anhydre dans 80 ml d'eau distillée. Après chauffage, la solution a été refroidie. Après 24h de repos à température ambiante, la solution a été filtrée sur papier Whatman n° 1 si nécessaire et complétée jusqu'à 100 ml de volume avec de l'eau distillée.

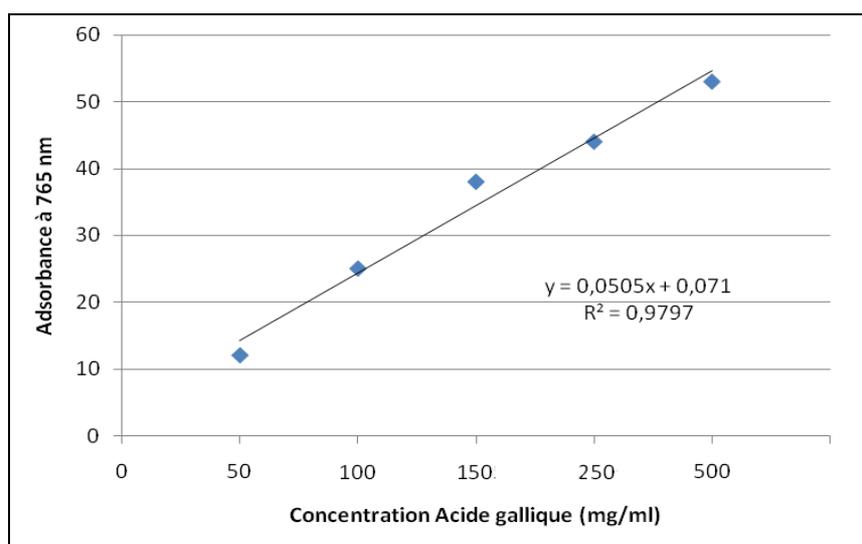
50 mg d'extrait d'origan sont dissous dans 10 ml d'éthanol et 40 ml d'eau ultra-pure pour obtenir une concentration de 1 mg/ml.

Une solution de référence d'acide gallique a été préparée dans une fiole jaugée de 50 ml en dissolvant 0.25 g d'acide gallique anhydre dans 5 ml d'éthanol absolu et complétée au trait de jauge avec de l'eau ultra-pure pour avoir une concentration de 5 mg/ ml. De même les différentes concentrations d'acide gallique (0, 50, 100, 150, 250 et 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) ont été obtenues par dilutions successives de cette solution de référence avec de l'eau ultra-pure (solutions de calibrage).

100  $\mu\text{l}$  de l'extrait et de chaque solution de calibrage a été mélangé, par agitation manuelle pendant 1-8 min, avec 400  $\mu\text{l}$  de réactif de Folin-Ciocalteu non dilué. Après 5 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, 500 $\mu\text{l}$  de solution saturée de carbonate de sodium ont été ajoutés et la solution a été diluée avec 1.5 ml d'eau ultra-pure. Le mélange réactionnel a été maintenu à l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante et son absorbance a été mesurée à 765 nm dans un spectrophotomètre.

La droite d'étalonnage d'acide gallique a été tracée pour des concentrations comprises entre 0 et 500 mg /L (figure 12).

La concentration des composés phénoliques a été estimée à trois reprises à l'aide de l'équation :  $y = a(x) + b$ , issue de la droite d'étalonnage établie à l'aide de la solution de référence d'acide gallique où : « a » représente la pente, « b » l'ordonnée à l'origine de la droite d'étalonnage et « x » l'absorbance de l'extrait. Les résultats sont exprimés en milligrammes (mg) équivalent d'acide gallique par g d'extrait. Les trois répétitions ont été appliquées et l'écart type fut calculé.



**Figure 12.** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

### 1.2.3. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

La détermination de la concentration des flavonoïdes totaux dans l'extrait éthanolique d'origan a été réalisée en utilisant la méthode décrite par Kim et al. (2003) sans aucune modification ;

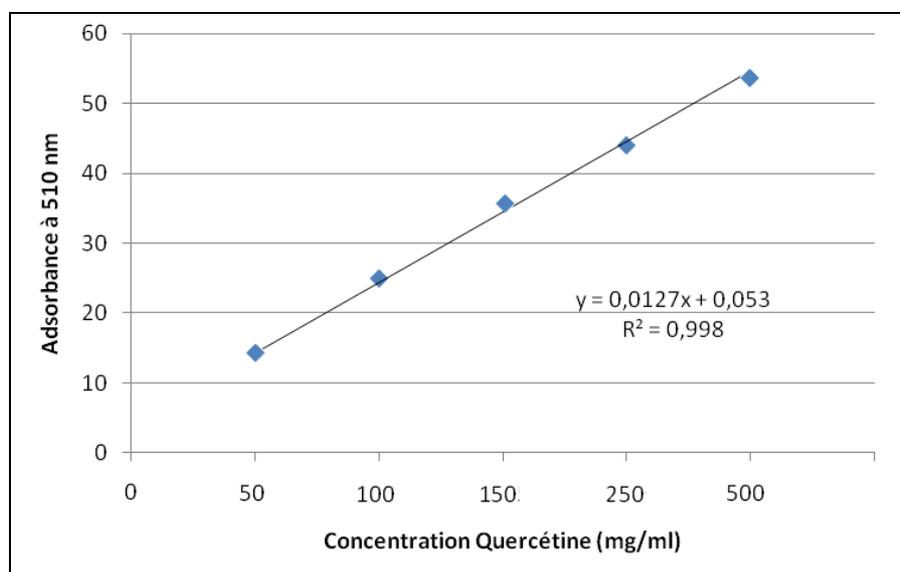
Une solution de chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) a été préparée dans une fiole jaugée de 10 ml en dissolvant 1 g de chlorure d'aluminium hexa hydraté ( $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ ) dans du méthanol. Après dissolution totale, la fiole a été complétée jusqu'au trait de jauge.

D'autre part, 50 mg d'extrait d'origan sont dissous dans 10 ml d'éthanol et 40 ml d'eau ultra-pure pour obtenir une concentration de 1 mg/ml.

Puis, une solution de référence de quercétine a été préparée avec de l'eau ultra-pure pour avoir une concentration de 1 mg/ml. De même les différentes concentrations de quercétine (0, 50, 100, 150, 250 et 500 µg/ml) ont été obtenues par dilutions successives de cette solution de référence avec de l'eau ultra-pure (solutions de calibrage).

0.5 ml de chaque extrait et de chaque solution de calibrage a été mélangé avec 2 ml d'eau ultra-pure. Au temps zéro ( $t_0$ ), 150 µl de solution de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) à 5 % ont été ajoutés. Après 5 minutes d'incubation ( $t_5$ ) dans l'obscurité à température ambiante, 150 µl de solution de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 10 % ont été ajoutés. Après 6 minutes d'incubation ( $t_{11}$ ) dans l'obscurité à température ambiante, 1 ml de solution d'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ ) à 1M a été ajouté. Immédiatement, le mélange réactionnel a été soigneusement dilué avec 1.2 ml d'eau ultra-pure, et son absorbance a été mesurée à 510 nm dans un spectrophotomètre.

La droite d'étalonnage à différentes concentrations de quercétine a été tracée (figure 13).



**Figure 13.** Courbe d'étalonnage de la quercétine.

La concentration des composés flavonoïdes a été estimée à trois reprises à l'aide de l'équation :  $y = a(x) + b$ , issue de la droite d'étalonnage établie à l'aide de la solution de référence de quercétine où : « a » représente la pente, « b » l'ordonnée à l'origine de la droite d'étalonnage et « x » l'absorbance de l'extrait. Les résultats sont exprimés en milli-

grammes (mg) équivalent de quercétine par g d'extrait. Les trois répétitions ont été appliquées et l'écart type fut calculé.

#### 1.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante

La détermination de l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique d'origan a été réalisée en utilisant la méthode du 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH°), telle que décrite par Stanković (2011) avec quelques modifications mineures ;

Dans un premier temps, des solutions de l'extrait et de référence (acide ascorbique comme antioxydant naturel et Butylhydroxytoluène « BHT » comme antioxydant de synthèse) ont été préparées en utilisant le méthanol comme diluant pour obtenir une concentration de 0.1 mg/ml.

Puis, différentes concentrations (0, 20, 40, 60, 80 et 100 µg/ml) ont été obtenues par dilutions successives de ces solutions en utilisant le méthanol comme diluant.

1950 µl de solution méthanolique de DPPH fraîchement préparée (1.9 mg DPPH dans 250 ml de méthanol) ont été ajoutés à 50 µl de l'extrait et des solutions de références à différentes concentrations. Après homogénéisation, le mélange réactionnel est rapidement maintenu à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'activité anti-radicalaire est estimée en calculant les pourcentages d'inhibition selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Abs Control} - \text{Abs l'échantillon}}{\text{Abs Control}} \cdot 100$$

Tandis que les valeurs de la concentration d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH, appelée aussi concentration inhibitrice 50 % (IC<sub>50</sub>), ont été calculés à l'aide de l'équation :  $y = a(x) + b$ , issue de la droite du % d'inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations établies pour chaque solution testée ; Extrait d'origan, BHT et l'acide ascorbique (figure 14. a, b et c).

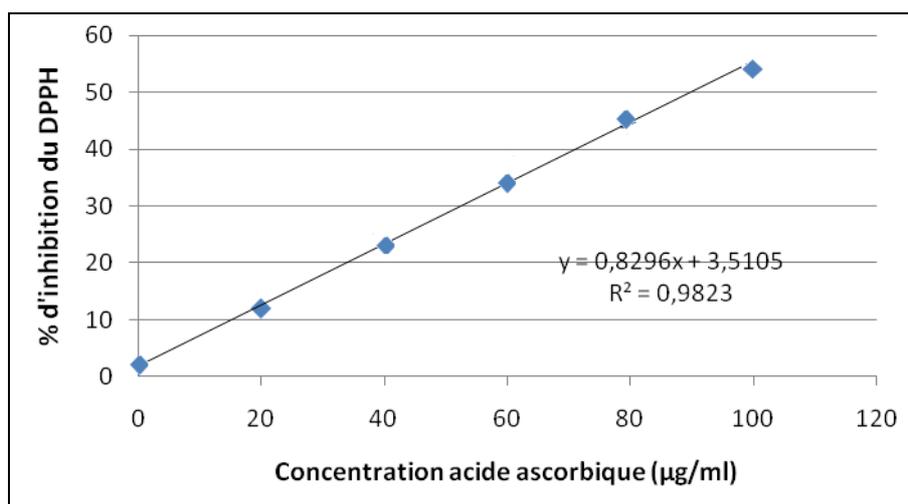


Figure 14. a. Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'acide ascorbique.

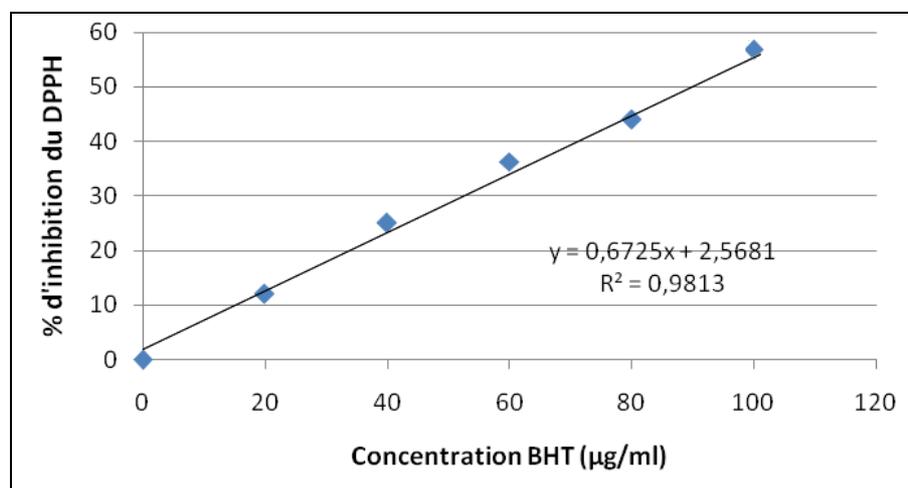


Figure 14. b. Pourcentage d'inhibition de DPPH par le BHT.

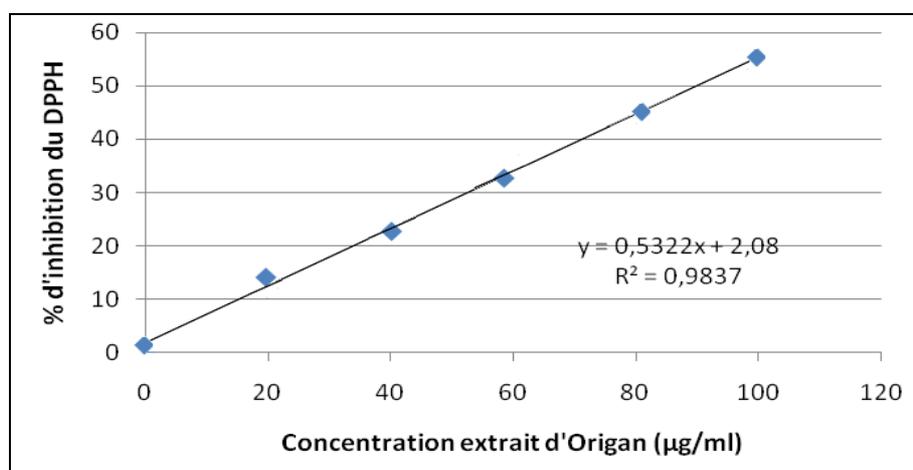


Figure 14. c. Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait d'origan.

Les résultats sont exprimés en milligrammes (mg) par g d'extrait. Les trois répétitions ont été appliquées et l'écart type fut calculé. Les courbes de pourcentages d'inhibition de l'extrait et des différentes solutions témoins ont été tracées.

### 1.3. Résultats et discussion

#### 1.3.1. Détermination du rendement d'extraction

Les extraits éthanoliques obtenus après évaporation étaient de couleur vert foncé avec une consistance pâteuse. Ces extraits ont été pesés pour déterminer le rendement moyen d'extraction.

Les résultats de la détermination du rendement d'extraction par macération des composés phénoliques rapportés en pourcentage (g d'extrait pour 100 g de plantes séchées) ont montré que l'extrait d'origan présentait un rendement en composés phénoliques de  $8.41 \pm 0.76$  % (poids/poids).

Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par Benchikha et al. (2013) qui ont obtenu un rendement d'extraction de 8.16 %. Nos résultats sont inférieurs à ceux enregistrés par Roby et al. (2013) et par Vagi et al. (2005) qui ont obtenu des rendements d'extraction éthanolique de 15.21 et 13.35 %, respectivement.

#### 1.3.2. Teneur en polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux estimée dans l'extrait d'origan en milligrammes (mg) équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg GAE/g d'extrait) a été déterminée par spectrophotométrie en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu. Cette méthode rapide est largement utilisée pour la détermination des composés phénoliques. La détermination de la teneur par cette méthode n'est pas une mesure absolue de la quantité des composés phénoliques (Sengul et al., 2009).

Les résultats montrent que l'extrait éthanolique d'origan obtenu dans notre étude à partir des parties aériennes a une teneur en polyphénols totaux de  $164.96 \pm 4.61$  mg GAE/g d'extrait ( $n=3$ ).

Ces résultats sont proches de ceux rapportés par Gawlic-Dziki (2012) et Dorman et al. (2003) qui ont observé une teneur en composés phénoliques totaux de 177.29 et 149.71 mg GAE/g d'extrait éthanolique d'origan, respectivement. Ces résultats sont inférieurs à ceux rapportés par Benchikha et al. (2013) qui ont enregistré une teneur en phénols totaux de 266.86 mg GAE/g d'extrait. Par contre, nos résultats sont supérieurs à ceux enregistrés par Chrпова et al. (2010), Pereira et al. (2012) et Fernandes et al. (2016) qui ont noté des teneurs en phénols totaux de 91.40, 72.87 et 48.66 mg GAE/g d'extrait éthanolique d'origan, respectivement.

### 1.3.3. Teneur en flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes déterminée dans notre extrait par la méthode au trichlorure d'aluminium est rapportée en mg équivalent de quercétine/g d'extrait. Les résultats révèlent que l'extrait éthanolique d'origan étudié présente une teneur faible en flavonoïdes totaux estimée à  $44.61 \pm 2.08$  mg QE/g d'extrait ( $n=3$ ).

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Gawlic-Dziki (2012) qui a observé une teneur en composés flavonoïdes totaux de 42.07 mg QE/g d'extrait d'origan. Nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par Benchikha et al. (2013) qui ont enregistré une teneur en flavonoïdes totaux de 57.55 mg RE/g d'extrait éthanolique d'origan.

Les différences enregistrées dans le rendement d'extraction et dans les teneurs des composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes totaux) contenues dans l'extrait de plante étudiée avec la littérature scientifique pourraient être dus:

D'une part, aux facteurs extrinsèques liés à la plante elle-même tels que ; l'origine, l'espèce végétale et l'organe considérée. En effet, Smallfield (2001) et Bruneton (1993) rapportent que les conditions environnementales et climatiques, le stade et la période de récolte, le cycle végétatif et la technique et la durée de conservation peuvent influencer sur les rendements d'extraction et les teneurs des composés phénoliques. De plus, les espèces végétales n'ont pas toutes le même potentiel; certaines familles botaniques offrant des rendements plus élevés que d'autres (Valnet, 1980) ;

D'autre part, aux facteurs liés à la technique d'extraction utilisée tels que ; la taille des particules, le choix et la concentration du solvant, l'épuisement, la température, la pression, le temps, le ratio et la méthode d'extraction (macération, décoction, infusion, hydro distillation, etc.) (Silva et al., 2007 ; Naczki et Shahidi, 2004).

Il est à signaler que les méthodes de détermination ne donnent pas une image complète sur la quantité des composés phénoliques dans l'extrait (Singleton et al., 1999). L'interférence des composés recherchés avec d'autres produits utilisés lors du dosage influe également sur les résultats finaux, à titre d'exemple la faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique (Roby et al., 2013 ; Kim et Lee, 2004). Ce réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles, non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres, protéines, etc. (Gomez-Caravaca et al., 2006). Le dosage par ce réactif donne donc une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec le réactif, donnant des valeurs apparentes élevées (Tawaha et al., 2007). C'est pour cela, qu'une analyse par Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) est intéressante pour la détermination des constituants phénoliques individuels dans l'extrait.

#### **1.3.4. Evaluation de l'activité anti radicalaire**

L'activité antioxydante de l'extrait éthanolique d'origan et des antioxydants naturels et synthétiques (acide ascorbique et BHT) vis-à-vis du radical DPPH (DPPH°) a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH°) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517 nm (Majhenic et al., 2007).

L'inhibition du radical DPPH° en fonction des différentes concentrations de l'extrait utilisé (origan) et des témoins (acide ascorbique et BHT) est représentée par la figure 15.

Nous constatons, en premier lieu, que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration. Les résultats montrent que les deux an-

tioxydants standards utilisés, à savoir ; l'acide ascorbique et le BHT possèdent une meilleure activité anti-radicalaire par rapport à l'extrait d'origan.

L'activité anti-radicalaire de l'extrait et des témoins est exprimée en  $IC_{50}$ , laquelle définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50 % de l'activité du radical DPPH (figure 16). Plus la valeur de l' $IC_{50}$  est faible, plus le substrat est considéré comme un antioxydant puissant (Stanković., 2011 ; Awa et al., 2018).

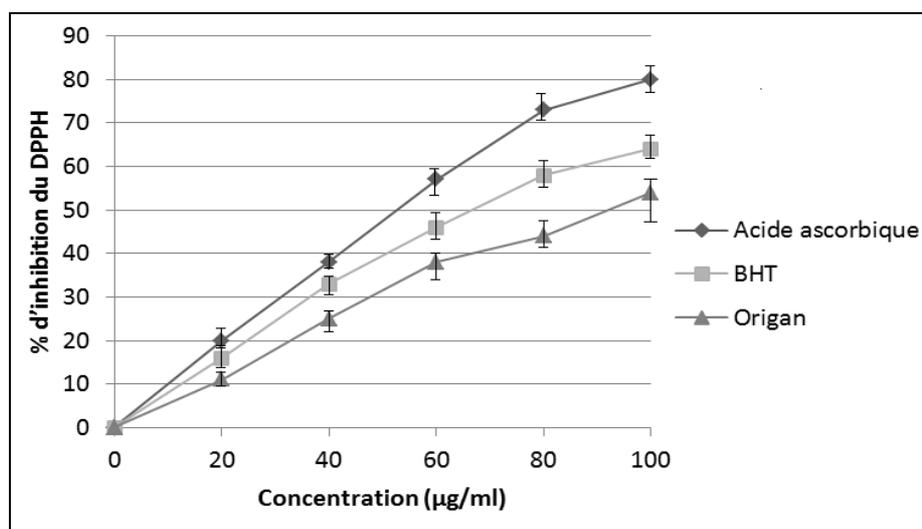


Figure 15. Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations utilisées.

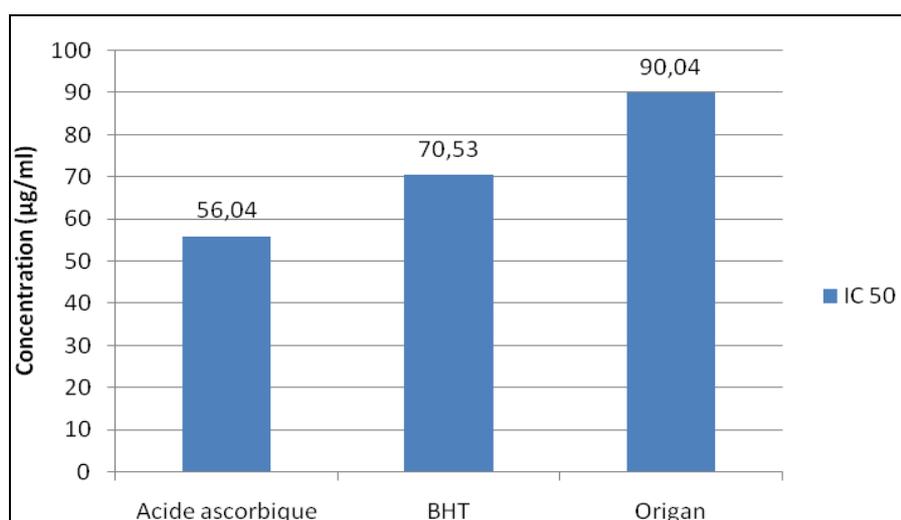


Figure 16. Concentrations de chaque substrat lors de l'inhibition de 50% de l'activité DPPH.

L'activité anti-radicalaire de l'acide ascorbique est plus puissante que celle du BHT avec des valeurs  $IC_{50}$  de 56.04 et 70.53  $\mu\text{g/ml}$ , respectivement. Alors que l'activité anti-radicalaire de l'origan à une valeur d' $IC_{50}$  de 90.04  $\mu\text{g/ml}$  (figure 16). Cependant, Benchikha et al. (2013) rapportent une valeur de l' $IC_{50}$  de l'ordre de 28.01  $\mu\text{g/ml}$  pour l'extrait d'origan.

Il est difficile de comparer les résultats obtenus à cause de l'influence et la diversité de plusieurs facteurs qui sont principalement relatifs à la matière végétale, aux techniques d'extraction et aux techniques d'évaluation, qui interfèrent dans le processus des analyses. En revanche, quel que soit la marge d'erreur issue de ces différents facteurs, l'extrait obtenu à partir de notre plante (origan) soumis au test DPPH, possède une bonne activité antioxydante proche de celles des produits standards utilisés (l'acide ascorbique et le BHT), ceci serait probablement dû aux polyphénols totaux contenus dans l'extrait d'origan.

L'extrait utilisé dans notre étude pourrait ainsi constituer une alternative prometteuse pour réduire l'auto-oxydation des aliments en général et des produits de la pêche en particulier.

## **Partie 2. Effet de l'application de l'extrait d'origan sur les paramètres de qualité des filets de thon frégate conservés dans l'emballage sous vide à température de réfrigération ( $3\pm 1$ °C)**

### **2.1. Objectifs**

La présente étude propose une nouvelle technique pour la conservation des filets de poisson comme produit réfrigéré. Pour cette raison, l'effet de l'application de l'extrait d'origan en combinaison avec l'emballage sous vide sur les paramètres de qualité des filets de thon frégate (Frigate tuna) conservés sous température de réfrigération a été étudié. Les modifications sensorielles, chimiques, microbiologiques et texturales liées à des critères de qualité ont été mesurées.

### **2.2. Matériel et méthodes**

#### **2.2.1. Présentation du matériel animal et conditions d'entreposage**

Environ 35 kg de thon frégate (*Auxis thazard*) capturés en février dans la mer Méditerranée en Turquie ont été achetés au marché local de poisson; et livrés au laboratoire stockés dans la glace en moins de 6 heures post-capture. La moyenne du poids et de la longueur des poissons ( $n = 10$ ) était de  $600.21 \pm 101.01$  g et de  $33.70 \pm 1.54$  cm, respectivement. Les poissons ont été rapidement éviscérés, étêtés, lavés et filetés sans enlèvement de la peau. Après cela, les filets ont été rincés à l'eau du robinet et divisés au hasard en deux lots. Un lot témoin a été gardé sans traitement, et le lot restant a été traité en le plongeant pendant 5 min dans de l'eau stérile purifiée contenant 0.5 % d'extrait d'origan. La concentration appliquée de l'extrait d'origan représentait la dose maximale non perceptible par le panel sensoriel.

Les lots non traités (témoins) et traités ont été emballés dans des poches en film de polyamide (Polinas, Manisa, Turquie) à raison de trois filets par poche en utilisant une conditionneuse sous vide Reepack RV50 (Seriarte, Via dell Artigianato, Italie). L'épaisseur du film était de 90  $\mu\text{m}$  tandis que la perméabilité à l'eau et à l'oxygène était de  $8.5 \text{ g m}^{-2} 24\text{h}$  et de  $160 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} 24\text{h}$ , respectivement.

Tous les échantillons ont été conservés sous forme de filet intact dans des conditions de réfrigération ( $3 \pm 1$  °C). Les prélèvements d'échantillons de poissons (Trois paquets de chaque lot, i.e. neuf filets) sont effectués le 0, 4, 8, 12, 15 et 18<sup>e</sup> jour de conservation. Toutes les analyses sensorielles, chimiques, microbiologiques et texturales ont été effectuées en triple exemplaire dans chacun des muscles blancs et rouges obtenus à partir du même filet.

### **2.2.2. Analyse sensorielle**

L'analyse sensorielle, appelée aussi sensométrie, est un outil objectif pour mesurer les perceptions sensorielles lors du contrôle de la qualité des produits de la mer. Elle repose sur l'évaluation de la fraîcheur, la dégustation des produits cuits et sur l'analyse statistique des réponses sensorielles données par le jury de dégustation.

Il est indispensable de noter que l'analyse sensorielle a été portée sur les deux types de muscles blanc et rouge du même filet distinctement.

#### **2.2.2.1. Filets crus**

L'évaluation sensorielle des filets de thon frégate, conservé sous vide avec ou sans extrait d'origan a été réalisée selon la méthode d'index de qualité (QIM) mise au point par Ariyawansa et al. (2003) avec quelques modifications. Elle est effectuée sur un échantillon prélevé selon les recommandations du tableau 6.

Le QIM se compose de cinq paramètres de qualité relatifs à l'aspect général, odeur, texture, couleur du filet et odeur d'extrait de plante. Le système comporte pour chacun des paramètres quatre descripteurs simples d'inaptitude permettant de définir le degré de fraîcheur. Le QIM attribue une note de 0 pour un filet très frais et une note de plus en plus grande à mesure que le filet se détériore. Le jury, composé de six évaluateurs formés et sélectionnés pour leurs capacités à discriminer ou à mémoriser les intensités sensorielles, a inspecté les filets et a enregistré le point d'inaptitude approprié pour chacun des paramètres. Pour chacun des membres de jury et pour chaque type de chair, les notes de tous les paramètres sont additionnés pour donner une note global d'inaptitude, appelé indice de qualité. La note définitive a été obtenue en calculant la moyenne arithmétique des notes des

six membres de jury. Il a été demandé au membre du jury d'indiquer si les filets étaient acceptables ou non pour la détermination de leurs durées de conservation.

**Tableau 6.** Méthode de l'index de qualité pour les filets de thon frégate.

Paramètres de qualité	Description	Note
<b>1. Apparence générale</b>	• Lustre normal, brillant, combinaison irisée métallique, Claire distinction des surfaces supérieure et inférieure (bleu foncé à noir bleuâtre sur le dessus, décoloration argenté sur le ventre).	<b>0</b>
	• Perte de couleurs vives / lustre disparu, Distinction difficile entre les surfaces supérieure et inférieure, Teinte dorée pâle sur la surface inférieure, semi-blanchie.	<b>1</b>
	• Corps global teinté, Une certaine structure musculaire visible, Les rides de la peau lors de la flexion, Très lavé et blanchi.	<b>2</b>
	• Couleur terne, fanée, trouble.	<b>3</b>
<b>2. Odeur</b>	• Odeur de fruits de mer frais.	<b>0</b>
	• Odeur neutre à légèrement poissonneuse.	<b>1</b>
	• Odeur de poisson moyennement rassis / acide (rance).	<b>2</b>
	• Odeur pourrie.	<b>3</b>
<b>3. Texture</b>	• Ferme, élastique et rebondit rapidement / immédiatement sous pression.	<b>0</b>
	• Raisonnablement ferme, une certaine perte d'élasticité revient lentement sous l'effet de la pression.	<b>1</b>
	• Modérément ferme (plutôt), recul partiel sur pression (peut rester).	<b>2</b>
	• Très mou et flasque.	<b>3</b>
<b>4. Couleur du filet</b>	<b>Muscle blanc:</b>	
	• Légèrement rosâtre, surface brillante.	<b>0</b>
	• Jaunâtre, surface terne.	<b>1</b>
	• Jaunâtre, surface brillante	<b>2</b>
	<b>Muscle rouge:</b>	
	• Grenat brillant.	<b>0</b>
• Muscle brun brillant.	<b>1</b>	
• Muscle noirâtre.	<b>2</b>	
<b>5. Odeur de l'extrait</b>	• Non perceptible (pas d'odeur).	<b>0</b>
	• Peu perceptible.	<b>1</b>
	• Très perceptible (intense).	<b>2</b>
<b>Note globale</b>		<b>0 – 15</b>

### 2.2.2.2. Filets cuits

Les évaluations sensorielles des filets de thon frégate cuits ont été évaluées selon la même méthode de Ariyawansa et al. (2003) sans aucune modification.

Les échantillons de muscles blancs et rouges sont séparés puis cuits durant 3 minutes à 500 Watts dans un four à micro-onde dans des assiettes à usage unique. Les échantillons, présentés simultanément aux membres du jury qui ont été invités à l'évaluer l'odeur et la saveur pour chaque type de muscle en utilisant un score de Torry avec une échelle hédonique à huit points (3, qualité la plus médiocre à 10, meilleure qualité) selon des critères définis dans le tableau 7. Le critère odeur est immédiatement jugé après avoir sorti l'échantillon du four micro-onde, alors que le critère concernant la saveur est évalué après avoir goûté l'échantillon.

**Tableau 7.** Score d'évaluation sensorielle pour les filets cuits (Ariyawansa et al., 2003).

Odeur	Saveur	Note
Odeur de foie de morue bouillie au départ, huile fraîche, féculents	Foie de morue bouilli aqueux, métallique.	<b>10</b>
Crustacés, algues, chair bouillie, foie de morue	Gras de foie de morue bouilli Doux, charnu, Caractéristiques	<b>9</b>
Perte d'odeur, Odeur neutre	Saveurs sucrées et caractéristiques mais d'intensité réduite.	<b>8</b>
Copeaux de bois, Sève de bois, Vanilline	Neutre	<b>7</b>
Lait condensé, Pommes de terre bouillies	Insipide	<b>6</b>
Les odeurs du pot à lait, comme des vêtements bouillis.	Trace d'acidité légère mauvais goût (rance)	<b>5</b>
Acide lactique, lait aigre, TMA	Légère amertume, saveur anormale, rance	<b>4</b>
Acides gras inférieurs (acides acétique ou butyrique, par exemple), herbe composée, savonneux.	Fort amer, caoutchouc, léger sulfure, rance	<b>3</b>

### 2.2.3. Analyses physico-chimiques

#### 2.2.3.1. pH

Les valeurs de pH sont mesurées à l'aide d'un pH-mètre (315i, WTW GmbH, Weinheim, Allemagne) dans chacun des muscles blanc et rouge issu du même filet par dispersion de la chair dans 10 volumes d'eau distillée selon la méthode décrite par Woyewoda et al. (1986) et le JORADP (2006).

#### 2.2.3.2. Dosage de l'Azote basique volatil total (ABVT)

Le dosage de l'azote basique volatil total (ABVT) permet de déterminer la teneur totale en azote des bases azotées volatiles (Ammoniac, triméthylamine, etc.) résultant de la dégradation des composés azotés du poisson lors de l'altération. Le dosage de l'ABVT est déterminé selon la méthode d'Antonacopoulos (1973).

Dans un matras de Kjeldahl, 10 grammes de la chair (avec la peau) sont homogénéisés avec environ 3-4 g d'oxyde de magnésium (MgO) et 2-3 gouttes d'émulsion de silicone antimousse. Avant l'analyse de l'échantillon, 10 ml d'acide borique à 3 % (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) sont ajoutés avec environ 6-8 gouttes de rouge de méthyle dans un collecteur (Erlenmeyer gradué) et le mélange est complété à 100 ml de volume avec de l'eau distillée.

Lorsque la distillation est terminée, 200 ml de distillat sont titrés par une solution étalon d'acide chlorhydrique (HCl) 0.1 N (jusqu'au changement de couleur du vert au rouge-violet) afin de déterminer la teneur en ABVT. Cette teneur est exprimée en milligrammes d'ABVT pour 100 g de chair selon la formule suivante :

$$\text{ABVT (mg/100 g de matière)} = \frac{\text{Volume HCl utilisé (ml)} \cdot 1,4 \cdot 100}{\text{Poids de l'échantillon (g)}}$$

#### 2.2.3.3. Indice de peroxyde (IP)

L'indice de peroxyde (IP) est la mesure des produits primaires d'oxydation lipidiques. Il est déterminé par la méthode AOCS (1994).

### 2.2.3.3.1. Extraction des lipides

L'extraction des lipides totaux est effectuée conformément à la méthode décrite par Bligh et Dyer (1959). Environ cinq grammes d'échantillon sont mélangés avec 100 ml de solution chloroforme-méthanol (2:1, v/v) à l'aide d'un homogénéisateur du type Ultra-Turrax pendant 2 minutes. Le mélange obtenu est filtré avec du papier filtre (595½, ø 185 mm, Réf-No. 311647, Schleicher & Schuell GmbH, Einbeck, Germany) puis transféré dans un ballon et l'homogénéisé avec 20 ml de solution chlorure de calcium à 0.4 % (CaCl<sub>2</sub>). Le mélange obtenu est gardé hermétiquement fermé pendant une nuit dans l'obscurité et à température ambiante. Le lendemain et après la séparation des deux phases à l'aide d'une ampoule à décanter ; la phase supérieure composée de méthanol-eau est éliminée et la phase inférieure composée du chloroforme-lipides est récupérée dans un ballon en verre pour être évaporé dans l'évaporateur rotatif (Büchi) à +60 °C jusqu'à assèchement. Enfin, mettre le ballon dans un incubateur à +60 °C pendant 30 minutes puis le refroidir dans un dessiccateur.

### 2.2.3.3.2. Dosage des peroxydes

Chaque gramme de lipide obtenu est solubilisé avec 20 ml de chloroforme (CHCl<sub>3</sub>) et 50 ml de solution d'acide acétique-chloroforme (3:2, v/v). Après agitation, la réaction est initiée par l'ajout d'un millilitre d'une solution aqueuse d'iodure de potassium saturé (KI). L'ensemble est agité puis scellé et placé 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante. La réaction est stoppée par l'ajout de 100 ml d'eau distillée avec 5-7 gouttes d'amidon à 1 %. La titration est réalisée par une solution de thiosulfate de sodium à 0.02 N (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) dans un endroit sombre. Le volume correspondant au virage de l'indicateur coloré jusqu'à la disparition de la couleur bleue permet de déterminer la concentration en peroxydes.

L'indice de peroxyde, exprimé en milliéquivalents de peroxyde d'oxygène par kilogramme de matière grasse, est calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Indice de peroxide (mEq O}_2\text{/kg)} = \frac{2 (V_1 - V_0)}{\text{Poids de l'échantillon (g)}}$$

Où:

$V_0$  = volume (ml) de thiosulfate de sodium 0.02 M utilisé dans l'essai à blanc

$V_1$  = volume (ml) de thiosulfate de sodium 0.02 M utilisé dans la prise d'essai.

#### **2.2.3.4. Dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (SR-ATB)**

La méthode à l'acide thiobarbiturique est une méthode simple et sensible, permettant le dosage des composés secondaires de l'oxydation des acides gras polyinsaturés. La méthode utilisée pour notre étude est celle décrite par Tarladgis et al. (1960);

10 g d'échantillon sont pesés dans des matras qui sont déposés dans de la glace pilée pour limiter l'oxydation. 97.5 ml d'eau distillée et 2.5 ml d'une solution d'HCl 6N sont ajoutés. Le mélange est homogénéisé 3 fois pendant 15 secondes à l'aide d'un homogénéisateur (Ultra-Turrax T50 Homogenizer, IKA, Staufen, Germany). Puis, le mélange est introduit dans l'appareil de Kjeldahl et le processus de distillation est poursuivi jusqu'à obtention d'un volume de 200 ml de distillat. 5 ml de distillat sont mis avec 5 ml de réactif TBA à 0.02 M contenu dans l'acide acétique glacial à 90 %. Le mélange final est parfaitement agité puis mis au bain-marie à + 70 °C pendant 35 minutes. A la sortie du bain-marie, les tubes sont placés dans un bain d'eau froide. L'absorbance de la solution rose est lue à 535 nm dans un spectrophotomètre (Lambda<sup>TM</sup> 25, PerkinElmer, Shelton, CT, USA).

La teneur en acide thiobarbiturique exprimée en équivalent de milligrammes de malondialdéhyde (MDA) par kg de chair est obtenue par la formule suivante :

$$\text{Teneur en SR-TBA (mg équivalent MDA/Kg de chair)} = \text{Absorbance mesurée} \times 7.8$$

#### **2.2.3.5. Analyse des acides gras libres (AGL)**

La teneur en acides gras libres (AGL) est déterminée selon le protocole décrit dans la méthode de l'AOCS (1994) par titration acidimétrique des extraits de Bligh et Dyer (1959), addition d'éthanol et utilisation de la phénolphthaléine comme indicateur.

Pour chaque dosage, 0.5 g de lipides est solubilisé dans 50 ml d'éther diéthylique-éthanol (1:1, v/v). Après agitation, 1 ml de l'indicateur coloré (phénolphthaléine 1 %) est ad-

ditionné. Ensuite, la titration est réalisée par une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) 0.1 M jusqu'à la persistance d'une couleur rose pour plus de 15 secondes.

La teneur en acides gras libres (AGL), exprimée en % d'acide oléique, est calculée en utilisant la formule suivante :

$$\text{Teneur en acides gras libres (\% d'acide oléique)} = \frac{(V_1 - V_0) \cdot 2,805}{\text{Poids de l'échantillon (g)}}$$

Où:

$V_0$ = volume (ml) d'hydroxyde de sodium (NaOH) 0.1 M utilisé dans l'essai à blanc,

$V_1$ = volume (ml) d'hydroxyde de sodium (NaOH) 0.1 M utilisé dans la prise d'essai,

2,805= facteur de conversion.

#### 2.2.4. Analyses microbiologiques

Les échantillons provenant de chacun des muscles blanc et rouge des deux lots de filet de thon frégate et destinés aux analyses microbiologiques sont préparés distinctement en homogénéisant aseptiquement 10 g de la chair avec la peau dans 90 ml de solution de Ringer  $\frac{1}{4}$  (Fluka ; Sigma Aldrich, Switzerland) pendant 2 minutes à l'aide d'un Stomacher. Le broyat est alors utilisé pour préparer des dilutions décimales successives en utilisant le même diluant selon la norme ISO 6887-3 (ISO., 2017).

Le dénombrement respectivement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT) et les bactéries psychrotrophes a été déterminé selon la norme ISO 4833-2 (ISO., 2013) et la norme ISO 17410 (ISO., 2001) en utilisant le milieu de culture « Plate Count Agar : PCA » (Fluka 70152, Switzerland). Des aliquotes de 0.1 ml de la suspension mère et de ses dilutions décimales ont été soigneusement étalées sur la surface de la gélose (ISO., 2013 ; ISO., 2001). Le dénombrement des bactéries aérobies mésophiles et psychrophiles a été effectué après une incubation de 72 h à + 30 °C (ISO., 2013) et de 10 jours à + 6.5 °C (ISO., 2001), respectivement. Les résultats sont exprimés en UFC / g puis transformés en log (UFC / g). Toutes les analyses ont été effectuées en triple et ont été prélevées sur chacun des muscles blanc et rouge pour chacun des deux lots.

### 2.2.5. Analyse du profil de texture (APT)

Les mesures des changements de texture ont été effectuées conformément à la méthode de Liu et al. (2014). L'APT a été mesuré par un analyseur de texture TA.XT équipé d'une cellule de charge de 50 N et du logiciel Texture Expert, v1.20 (Stable Micro Systems Ltd, Godalming, Surrey, Royaume-Uni). Les échantillons de muscles blanc et rouge ont été prélevés distinctement et à partir du même filet de thon de frégate. Avant l'analyse, les échantillons ont été équilibrés à température ambiante pendant 30 minutes et découpés en sections de 35 mm de longueur, de 10 mm de largeur et de  $20 \pm 2$  mm de hauteur. Tous les échantillons ont été séchés avec du papier filtre après traitement. Un cylindre à bout plat (P/36R) utilisé avec un diamètre de 35 mm a été pressé dans l'échantillon à une vitesse constante de 1 mm/s jusqu'à atteindre 50 % de l'épaisseur. Ensuite, la force a été réduite et l'échantillon a pu récupérer 10 secondes tout en gardant le cylindre en contact avec la surface de l'échantillon. Enfin, la sonde a été enfoncée une deuxième fois dans l'échantillon et les valeurs des différents paramètres de texture, notamment la dureté, la compression, l'adhérence, la résilience et la mâchabilité ont été estimés.

### 2.2.6. Analyse statistique des résultats

Les valeurs moyennes et les écarts types ont été obtenus à partir de données en triple exemplaire pour chaque type de muscle et pour chaque traitement. Après avoir testé la normalité et l'égalité des variances, les données ont été évaluées à l'aide d'une analyse de variance suivie du test *post-hoc* de Duncan afin de réaliser une comparaison multiple des moyennes pour déterminer les différences significatives à  $p < 0.05$  entre les différents muscles et les différents traitements. Les analyses statistiques de données relatives à l'évaluation sensorielle, chimique, microbiologique et du profil de texture ont été réalisées par le logiciel SPSS (SPSS 19.0 pour Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

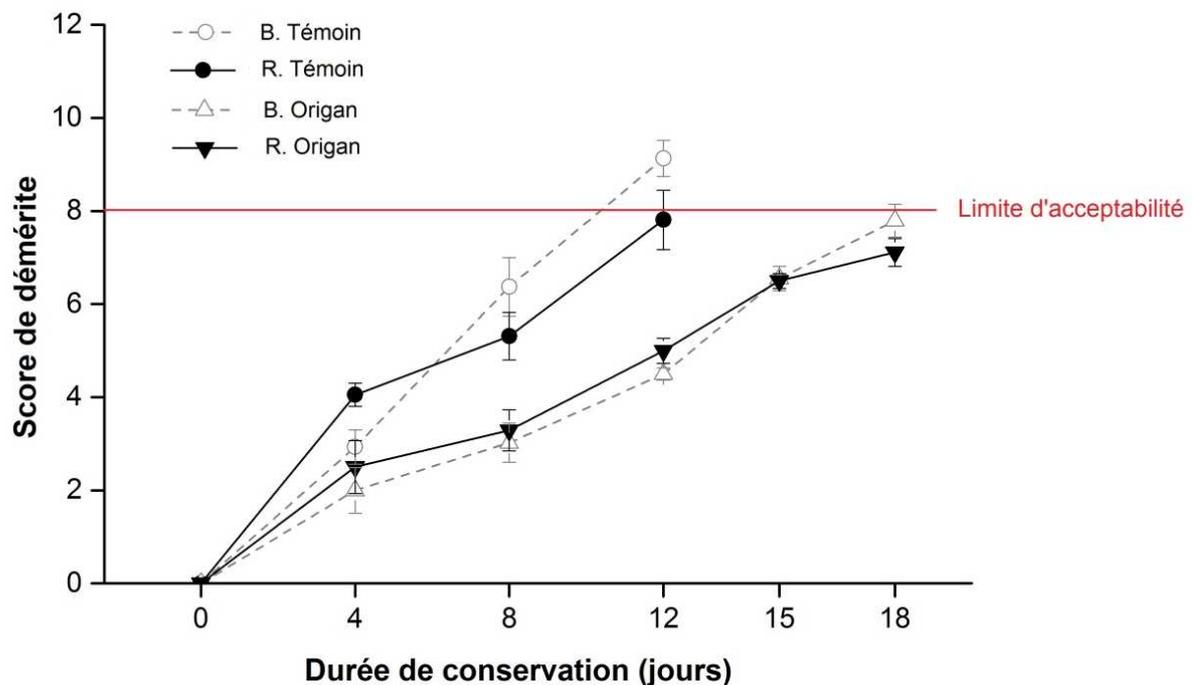
## 2.3. Résultats et discussion

### 2.3.1. Analyse sensorielle

L'évaluation sensorielle de la chair blanche et rouge crues et cuites issues des filets de thon frégate stockés sous vide avec ou sans extrait d'origan a été évaluée tout au long des 18 jours de stockage à l'état réfrigéré.

### 2.3.1.1. Filet Cru

Les scores sensoriels de démerite des chairs crues du thon frégate sont présentés dans la figure 17. Le score sensoriel initial des deux chairs était de 0, ce qui représentait une fraîcheur absolue. La qualité sensorielle a diminué dans chaque type de chair au cours des 18 jours de stockage pour tous les traitements, indiquant la perte progressive de fraîcheur pendant la conservation. Aucune différence significative ( $p > 0.05$ ) n'a été observée entre les chairs blanche et rouge de chaque traitement. Les paramètres de qualité (c.-à-d. luminosité, texture, odeur et couleur) des deux chairs issues des lots témoins (SV uniquement) étaient moins bons que ceux des lots traités (origan). Le seuil d'acceptabilité a été défini comme ayant un score de 8. Les chairs blanche et rouge du lot témoin n'étaient plus acceptables au 12<sup>e</sup> jour de stockage; ainsi, leur durée de conservation observée n'excédait pas 12 jours (scores de démerite : 9.13 et 7.81, respectivement).



**Figure 17.** Évaluation sensorielle des chairs crues rouge (R) et blanche (B) de filet de thon frégate au cours du stockage réfrigéré sous emballage sous vide: lot non traité (témoin), lot traité avec l'extrait (origan).

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  Ecart-type,  $n = 6$ . Les écarts types sont indiqués par des barres.

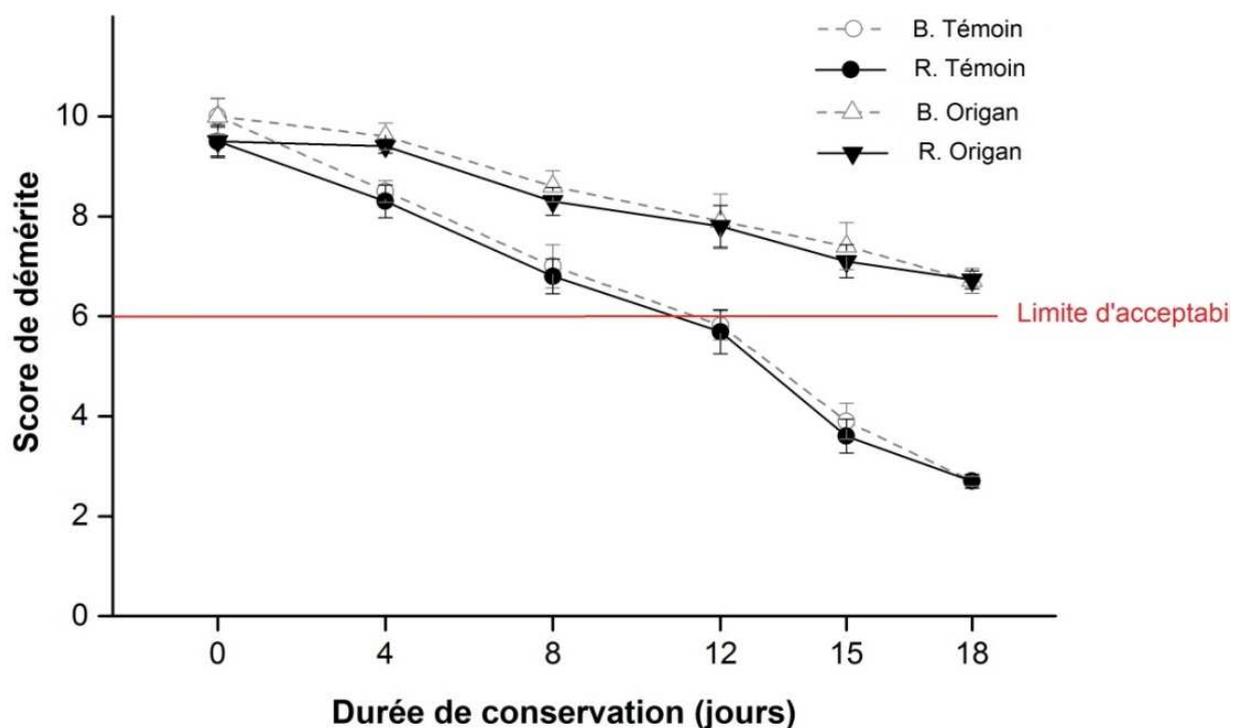
Les résultats de l'analyse sensorielle ont montré que la durée de conservation des muscles blanc et rouge est affectée par la présence de l'extrait de la plante utilisée. L'application d'extrait d'origan a prolongé la durée de conservation du muscle blanc de 6 jours supplémentaires par rapport à son homologue non traité et a maintenu l'acceptabilité du muscle rouge jusqu'à la fin (18e jour) de la période de stockage sous vide (scores de dé-mérite, 7.79 et 7.11, respectivement). Par conséquent, l'extrait d'origan prolongeait la durée de vie sensorielle des chairs blanche et rouge du thon frégate et présentait une amélioration majeure de la qualité sensorielle de la chair rouge par rapport à la chair blanche. Koral & Köse (2012) ont rapporté que, lors de la réfrigération, la bonite de l'Atlantique entière avait une durée de conservation de 7 jours et démontrait que le filetage améliorait les attributs de qualité pendant 3 jours de plus que la bonite de l'Atlantique entière. Thiansilakul et al. (2011) ont rapporté que pendant le stockage réfrigéré, les filets de petit thon de l'Est emballés sous vide conservaient une apparence acceptable pendant trois jours supplémentaires par rapport à ceux conservés dans des emballages sous atmosphère exposée et riche en oxygène. Mexis et al. (2009) ont signalé que l'utilisation d'huile essentielle d'origan à une concentration de 0.4 % (p/v) et d'absorbant d'oxygène prolongeait la durée de conservation des filets de truite arc-en-ciel réfrigérés de 3-4 et 9-10 jours, respectivement. Les allongements observés de la durée de conservation dans les chairs blanche et rouge du thon frégate peuvent résulter de l'effet cumulatif de l'utilisation combinée du filetage, de l'emballage sous vide et de l'extrait de plante pendant le stockage réfrigéré.

#### **2.3.1.2. Filet cuit**

Les scores sensoriels des chairs cuites de thon frégates stockées sous emballage sous vide avec ou sans traitement à l'extrait d'origan ont diminué pendant les 18 jours de stockage réfrigéré ( $3 \pm 1$  °C) (figure 18). Tout au long de l'expérience, aucune différence significative ( $p > 0.05$ ) n'a été observée entre la chair blanche et la chair rouge pour chacun des traitements. Cependant, des différences significatives ( $p < 0.05$ ) ont été observées entre le lot témoin et le lot traité dans chaque type de chair. Le lot traité a été hautement préféré par le jury d'analyses en raison de sa saveur appétissante.

Le seuil d'acceptabilité a été défini comme ayant un score de 6. Au fur et à mesure que la détérioration progressait, la qualité sensorielle des chairs blanche et rouge diminuait jus-

qu'à ce qu'elles ne soient plus comestibles au 12<sup>e</sup> jour pour l'échantillon témoin (scores de démerite, 5.82 et 5.69, respectivement). Toutefois, la limite d'acceptabilité n'a pas été atteinte avant le 18<sup>e</sup> jour de stockage réfrigéré ( $3 \pm 1$  °C) dans les chairs blanche et rouge pour les échantillons conservés sous vide en combinaison avec l'extrait d'origan (scores démerite, 6.71 et 6.73, respectivement). Au moment du rejet par les participants, les scores de démerite des chairs cuites de thon frégate étaient en accord avec leurs homologues crues correspondant à chaque type de chair. Par conséquent, nous pouvons conclure que le traitement combiné des conditions sous vide, du stockage réfrigéré ( $3 \pm 1$  °C) et l'extrait d'origan pourraient être utilisé pour prolonger la durée de conservation des muscles de thon frégate.



**Figure 18.** Évaluation sensorielle des chairs cuites rouge (R) et blanche (B) de filet de thon frégate au cours du stockage réfrigéré sous emballage sous vide: lot non traité (témoin), lot traité avec l'extrait (origan).

*Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  Ecart-type,  $n = 6$ . Les écarts types sont indiqués par des barres.*

### 2.3.2. Analyses physico chimiques

#### 2.3.2.1. Variation du pH et évaluation de la teneur en ABVT

Le tableau 8 résume les moyennes et les écarts-types des valeurs du pH et de l'azote basique volatil total (ABVT) analysées pour chaque jour de prélèvement.

**Tableau 8.** Effet de l'application de l'extrait d'origan sur le pH, ABVT des muscles blanc et rouge des filets de thon frégate conservés dans des conditions sous vides à température de réfrigération ( $3 \pm 1$  °C).

Durée de conservation (jours)	Paramètres	pH		ABVT (mg per 100 g)	
		Echantillon	Témoin	Origan	Témoin
0	B	5.69±0.01a,Y	5.69±0.01a,Y	12.82±0.41a,Y	12.82±0.41a,Y
	R	5.77±0.02a,X	5.77±0.02a,X	17.21±0.84a,X	17.21±0.84a,X
4	B	5.73±0.04a,Y	5.71±0.21a,Y	18.94±0.70a,Y	18.39±2.33a,X
	R	5.89±0.06a,X	5.85±0.09a,X	28.29±0.88a,X	22.37±3.54b,X
8	B	5.85±0.04a,X	5.77±0.06b,Y	21.41±0.73a,Y	19.84±0.35b,X
	R	5.89±0.03a,X	5.81±0.01b,X	22.96±0.63a,X	19.80±0.56b,X
12	B	5.87±0.02a,Y	5.86±0.07a,X	19.59±0.04a,X	15.21±0.77b,Y
	R	5.93±0.02a,X	5.89±0.06a,X	19.25±0.20b,Y	20.96±0.73a,X
15	B	5.88±0.02a,X	5.76±0.01b,Y	30.65±0.07a,X	25.92±0.64b,X
	R	5.92±0.02a,X	5.85±0.02b,X	30.11±0.28a,Y	25.88±0.69b,X
18	B	5.76±0.02b,Y	5.89±0.04a,X	26.80±0.71a,Y	23.39±1.23b,X
	R	5.82±0.02b,X	5.92±0.02a,X	29.31±0.52a,X	24.21±0.22b,X

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart-type, ( $n = 3$ ).

B: Muscle blanche, R: Muscle rouge.

a, b: Différentes lettres minuscules affectées sur les données dans la même ligne indiquent une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les traitements dans le même muscle.

X, Y: Différentes lettres majuscules affectées sur les données dans la même colonne indiquent une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les deux muscles du même traitement.

Le pH initial du muscle rouge était nettement plus élevé ( $p < 0.05$ ) que celui du muscle blanc (5.77 et 5.69, respectivement). Des valeurs de pH similaires ont été reportées par Guran et al. (2015) pour le muscle blanc de la bonite (*Sarda sarda*) et par Junsi et al. (2012)

pour le muscle rouge du listao (*Katsuwonus pelamis*). Cependant, ce résultat ne concorde pas à ceux rapportés par Chaijan et al. (2013) dans lesquels le pH de la même espèce étudiée (*A. thazard*) était plus élevé dans le muscle blanc que dans le muscle rouge, suggérant que le pH peut varier non seulement entre les muscles blanc et rouge, mais aussi dans la même espèce, ce qui pourrait être dû à divers facteurs tels que la saison, les procédures de récolte, les conditions biologiques et les méthodes de mise à mort (Mazorra-Manzano et al., 2000). Pendant toute la période de stockage, les valeurs de pH du muscle rouge étaient significativement plus élevées ( $p < 0.05$ ) que celui du muscle blanc. Ceci est en désaccord avec les résultats rapportés par Li et al. (2016) et pourrait s'expliquer par la formation d'acide lactique (Chaijan et al., 2013), résultant de l'épuisement du glycogène en tant que source principale d'énergie dans des conditions anaérobies en raison de l'activité intense produite par le muscle blanc lors de la capture (Love, 1970 ; Bilinski, 1974 ; Modigh et Tota, 1975 ; George et Don Stevens, 1978) entraînant une diminution du pH de ce muscle comparé au muscle rouge. Quel que soit le lot, les variations de pH ont eu la même tendance dans le muscle blanc et le muscle rouge au cours du stockage. Cependant, des augmentations significatives ( $p < 0.05$ ) suivies d'une diminution de la valeur du pH ont été observées jusqu'au 12<sup>e</sup> et 15<sup>e</sup> jour dans les échantillons des lots traités et non traités, respectivement. L'augmentation du pH peut être attribuée à l'accumulation de composés alcalins tels que l'ammoniac et la triméthylamine, principalement produits par les bactéries responsables de la dégradation du poisson (Ruiz-capillas et Moral, 2005) et / ou à la production d'amines biogènes (Krizek et al., 2004 ; Genç et al., 2013). La diminution de la valeur du pH peut être causée par la décomposition anaérobie du glycogène dans le poisson (Song et al., 2011). La comparaison entre les différents lots a montré que les filets conservés uniquement sous vide (témoin) développaient dans les deux muscles, une valeur de pH supérieure ( $p < 0.05$ ) à celle des individus correspondants traités à l'extrait d'origan aux 8<sup>e</sup>, 15<sup>e</sup> et 18<sup>e</sup> jours. Aucune différence ( $p > 0.05$ ) n'a été observée entre les lots aux 4<sup>e</sup> et 12<sup>e</sup> jours dans les muscles blancs et les muscles rouges. En fin de stockage, les valeurs de pH du lot témoin étaient significativement ( $p < 0.05$ ) inférieures à celles du lot traité, ce qui aurait pu être causé par la production d'acide lactique à partir de la croissance de bactéries lactiques (Li et al., 2016). À partir de ces résultats, il est difficile de conclure que l'utilisation de l'extrait d'origan en association avec

l'emballage sous vide peut avoir une incidence sur la valeur du pH. Le paramètre pH n'est donc pas utile en tant qu'indice physico-chimique de la qualité.

L'azote basique volatil total résulte de la dégradation bactérienne et/ou autolytique des protéines du poisson (Huss, 1995). Sa détermination est souvent utilisée comme un indicateur de la détérioration de la chair du poisson cru (Erkan et al., 2007) et dépendent largement de la méthode d'analyse (Kuley et al., 2012).

Les valeurs initiales de l'ABVT étaient significativement ( $p < 0.05$ ) plus faibles dans le muscle blanc que dans le muscle rouge (12.82 et 17.21 mg/100 g, respectivement). Ces valeurs concordent avec celles reportées par Liu et al. (2014) et par Oksuz et al. (2008) pour le listao (*K. pelamis*) et la bonite (*S. sarda*), respectivement, et qui ont démontré que la quantité de l'ABVT était beaucoup plus élevée dans le muscle rouge que dans le muscle blanc au même niveau de fraîcheur. Dans notre étude, les valeurs de l'ABVT ont montré une tendance à augmenter avec le temps dans les deux types de muscles pour tous les échantillons emballés jusqu'au 15<sup>e</sup> jour, suivie d'une diminution qui pourrait dénoter la faible activité bactérienne à la fin de la période de stockage. Le taux d'augmentation de l'ABVT dans les muscles blanc et rouge était en accord avec le taux d'augmentation des bactéries mésophiles et psychrophiles.

L'analyse statistique des données de l'ABVT a montré des différences significatives ( $p < 0.05$ ) entre les muscles blanc et rouge du lot témoin, alors qu'aucune différence significative ( $p > 0.05$ ) n'a été observée entre les deux types de muscles du lot traité (origan) à chaque jour de prélèvement. Pendant toute la période de stockage, les valeurs de l'ABVT du lot témoin étaient significativement plus élevées ( $p < 0.05$ ) dans le muscle rouge que dans le muscle blanc, ce qui indique que le muscle rouge s'est détériorée plus rapidement que le muscle blanc. Cependant, dans les deux types de muscles, les lots traités (origan) produisaient des valeurs d'ABVT considérablement inférieures ( $p < 0.05$ ) par rapport à leurs homologues conservés dans un emballage sous vide (lot témoin). La réduction significative de la valeur de l'ABVT dans les lots traités peut être attribuée à l'effet combiné de l'emballage sous vide avec les propriétés antibactériennes des composés phénoliques de l'extrait d'origan tels que le carvacrol et le thymol (Burt, 2004).

Plusieurs auteurs ont signalé que le seuil d'acceptabilité du filet de poisson frais était de 30 mg ABVT/100 g (Koral et al., 2012 ; Liu et al., 2014). Koral et al. (2012) ont rapporté que les valeurs de ABVT atteignaient la limite d'acceptabilité à 35.37 mg / 100 g le 5<sup>e</sup> jour, alors que Erdem et al. (2009) ont signalé que la valeur de ABVT atteignait la limite d'acceptabilité le 6<sup>e</sup> jour avec une valeur de 30.40 mg / 100 g sans qu'ils spécifient le site de prélèvement à partir des bonites (*Sarda sarda*) stockée à température de réfrigération. Seules les muscles du lot témoin ont dépassé la limite établie le 15<sup>e</sup> jour avec des valeurs d'ABVT de 30.65 et 30.11 mg/100 g pour le muscle blanc et le muscle rouge, respectivement. Cependant, les valeurs de ABVT du lot traité étaient inférieures à cette limite jusqu'à la fin du stockage. Ces résultats indiquent que l'ABVT est un indice approprié pour mesurer la détérioration des filets du thon frégate conservées en sous vide à température de réfrigération.

### 2.3.2.2. Oxydation des lipides

Le tableau 9 résume les teneurs de l'indice de peroxyde et l'acide thiobarbiturique pour chaque jour de prélèvement.

#### 2.3.2.2.1. Evaluation de l'indice de peroxyde (IP)

L'indice de peroxyde (IP) a été employé pour déterminer les premiers stades de l'oxydation des graisses qui limite la durée de conservation des produits de pêches (Melton, 1983). Les valeurs initiales de l'indice peroxyde des filets maintenues sous vide dans des entrepôts réfrigérés étaient 2.61 et 1.45 mEq O<sub>2</sub>/kg pour les muscles blanc et rouge, respectivement. Sohn & Ohshima (2010) ont rapporté que les niveaux de peroxydes lipidiques des muscles du thon listao (*Katsuwonus pelamis*) étaient plus élevés dans le muscle rouge que dans le muscle blanc pendant les 72 heures de stockage dans la glace. De plus, George & Bokdawala (1964), Bilinski & Jonas (1964) et Dean (1969) ont indiqué que, dans des conditions *In-vitro*, le muscle rouge avait une capacité d'oxydation des acides gras considérablement plus élevée que le muscle blanc.

Comme indiqué dans le tableau 9, pendant presque toute la période de stockage, les valeurs de peroxydes dans le muscle blanc étaient nettement plus élevées ( $p < 0.05$ ) que dans le muscle rouge et ne dépassaient pas la limite préétablie de 20 mEq O<sub>2</sub> / kg de la

graisse dans tous les échantillons emballés pendant toute la période de stockage, ce qui peut être attribué à l'utilisation de filets intacts et des conditions sous vides.

**Tableau 9.** Effet de l'application de l'extrait d'origan sur l'indice peroxyde et l'acide thiobarbiturique des muscles blanc et rouge des filets de thon frégate conservés dans des conditions sous vides à température de réfrigération ( $3 \pm 1$  °C).

Durée de conservation (jours)	Paramètres	IP (mEq O <sub>2</sub> /kg)		ATB (mg MDA/kg)	
		Echantillon	Témoïn	Origan	Témoïn
0	B	2.61±0.23a,X	2.61±0.23a,X	0.56±0.01a,Y	0.56±0.01a,Y
	R	1.45±0.20a,Y	1.45±0.20a,Y	0.64±0.01a,X	0.64±0.01a,X
4	B	3.83±0.04a,X	2.60±0.73b,X	0.84±0.04a,X	0.83±0.02a,X
	R	1.88±0.07a,Y	1.91±0.19a,X	0.57±0.02b,Y	0.64±0.03a,Y
8	B	6.33±1.15a,X	2.00±0.33b,X	0.91±0.06a,X	0.78±0.06b,X
	R	0.99±0.02a,Y	1.03±0.00a,Y	0.66±0.01a,Y	0.65±0.01a,Y
12	B	3.23±0.26a,X	2.06±0.35b,X	1.46±0.01a,X	0.84±0.02b,X
	R	1.62±0.01a,Y	0.94±0.02b,Y	1.12±0.01a,Y	0.77±0.01b,Y
15	B	4.37±0.99a,X	2.57±0.08b,X	0.89±0.01a,X	0.58±0.01b,X
	R	5.32±0.25a,X	2.55±0.09b,X	0.63±0.02a,Y	0.55±0.01b,Y
18	B	5.27±0.65a,X	2.07±0.05b,X	1.28±0.02a,X	0.85±0.02b,X
	R	2.16±0.04a,Y	2.03±0.16a,X	1.31±0.01a,X	0.72±0.12b,Y

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart-type, ( $n = 3$ ).

B: Muscle blanc, R: Muscle rouge.

a, b: Différentes lettres minuscules affectées sur les données dans la même ligne indiquent une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les traitements dans le même muscle.

X, Y: Différentes lettres majuscules affectées sur les données dans la même colonne indiquent une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les deux muscles du même traitement.

Certaines réactions se produisent juste après le filetage du poisson (Richards et al., 1998). Dans les filets intacts, la peau et les muscles blancs retiennent la quasi-totalité de la surface qui rentre en contact avec l'air et offrent un environnement protecteur pour le muscle rouge, ce qui signifie que le muscle blanc a une plus grande surface qui entre en contact avec l'oxygène. Ainsi, le muscle blanc consomme beaucoup d'oxygène et l'empêchent

d'atteindre le muscle rouge et par conséquent, la disponibilité en oxygène à la surface du muscle blanc est nettement supérieure, ce qui le rend beaucoup plus exposé à l'oxydation des lipides que le muscle rouge dans le filet intact. Ceci est soutenu par Koral et al. (2012), qui ont rapporté que le filetage (seule) augmente l'oxydation des lipides, et aussi par Undeland et al. (1998) qui ont signalé que le muscle rouge stocké dans un filet intact de hareng présentait une dégradation oxydative plus faible que lorsqu'il était stocké séparé de la peau et le muscle blanc. De plus, l'emballage sous vide impliquait l'élimination complète de l'oxygène avec un scellement hermétique et empêchait le filet d'être en contact direct avec l'O<sub>2</sub>, ce qui entraînait une réduction significative de l'oxydation des lipides pendant le stockage (Kang et al., 2014 ; Johnson et Decker, 2015).

Dans la présente étude, le conditionnement sous vide avec l'extrait de plantes a réduit de manière significative la formation de peroxyde ( $p < 0.05$ ) dans les deux types de muscles et notamment dans le muscle rouge, ce qui suggère que l'extrait de plante utilisé en combinaison avec le conditionnement sous vide sont efficaces pour retarder la peroxydation des lipides dans les muscles blanc et rouge des filets de thon frégate conservés à la température de réfrigération. En revanche, dans le muscle rouge, aucune différence ( $p > 0.05$ ) n'a été observée jusqu'au 8<sup>e</sup> jour de la période de stockage entre tous les traitements. Cette stabilité observée dans le muscle rouge peut être liée à l'utilisation du filet intact.

Ces résultats montrent que l'effet majeur sur la réduction des valeurs de l'indice de peroxyde est lié à l'utilisation du conditionnement sous vide. Cependant, la présence d'extrait d'origan dans l'emballage sous vide a conduit à une réduction supplémentaire de la peroxydation des lipides et a donné des valeurs plus faibles en peroxyde dans les deux types de muscles du poisson.

#### **2.3.2.2.2. Evaluation des substances réactives à l'acide thiobarbiturique**

La valeur de l'acide thiobarbiturique (ATB) est un indice secondaire de l'oxydation lipidique qui mesure le contenu en malondialdéhyde (MDA). La présence de MDA est un composé secondaire d'oxydation résultant de la décomposition des hydroperoxydes lipidiques formés lors du procédé d'oxydation des acides gras polyinsaturés (Kostaki et al., 2009 ; Pantazi et al., 2008 ; Fan et al., 2008 ; Goulas et Kontominas, 2006 ; Fernandez et al., 1997). Des

valeurs d'ATB initiales plus élevées ont été enregistrées dans le muscle rouge que dans le muscle blanc (tableau 9), ce qui pourrait être dû à des teneurs plus élevées en lipides et en acides gras insaturés dans le muscle rouge. De même, Koral et al. (2012) ont observés des valeurs similaires (0.54 mg MDA / kg) dans le muscle blanc de la bonite Atlantique. Cependant, Mazorra-Manzano et al. (2000) ne supportent pas les valeurs de notre ATB car ils ont trouvés un niveau initial plus élevé, à savoir 1 mg de MDA / kg pour les muscles blanc et rouge non séparées du filet de bonites noires. Les valeurs plus faibles de l'ATB observées initialement dans les muscles blanc et rouge suggèrent que dans notre poisson frais, l'oxydation secondaire des lipides ne s'est pas produite lors de la manipulation post mortem. A partir du 4<sup>e</sup> jour de stockage, la teneur en ATB du muscle blanc était significativement plus élevée ( $p < 0.05$ ) que celle du muscle rouge pendant toute la période de stockage. Ce qui contredit Sohn et al. (2005) qui ont rapporté que les valeurs de l'ATB étaient plus élevées dans le muscle rouge que dans le muscle blanc de la limande à queue jaune. Ces changements observés dans la teneur en ATB suggèrent que les taux de décomposition des hydroperoxydes étaient plus rapides dans le muscle blanc que dans le muscle rouge, ce qui pourrait être dû à l'utilisation du filet intact avec l'élimination de l'oxygène. Dans la présente étude, la teneur en MDA dans tous les échantillons a montré des fluctuations dans les deux types de muscles; il y a une tendance vers une augmentation des valeurs de l'ATB jusqu'à un certain point pendant la période de stockage, suivie d'une diminution de ces valeurs, ce qui signifie que ces valeurs ne sont pas stables pendant de longues périodes (Fernandez et al., 1997). L'augmentation de l'ATB indique la formation de produits secondaires d'oxydation lipidique (Kolakowska, 2002), tandis que la diminution de ces valeurs peut représenter la dégradation du malonaldehyde en raison de la dégradation tertiaire (Pezeshk et al. 2011). Pratiquement à chaque jour de prélèvement et quel que soit le type de muscle, des valeurs de l'ATB plus élevées significativement ( $p < 0.05$ ) ont été observées dans lot témoin par rapport à leurs homologues traités. Néanmoins, un résultat inverse a été observé uniquement dans le muscle rouge des échantillons le 4<sup>e</sup> jour.

Diverses limites d'acceptabilité ont été rapportées pour cet indice. Selon Fan et al. (2008), des valeurs de l'ATB de 1 à 2 mg de MDA / kg de chair de poisson sont généralement considérées comme la limite au-delà de laquelle les poissons développent normalement un goût inacceptable. Dans notre étude, les valeurs de l'ATB dépassaient 1 mg de MDA / kg

dans les muscles blanc et rouge du lot témoin au 12<sup>e</sup> jour de stockage. Nos résultats ne concordent pas avec ceux rapportés par Koral et al. (2012), qui ont démontré que le filetage seul n'était pas suffisant pour améliorer les valeurs de l'ATB de la bonite de l'Atlantique qui dépassaient la limite d'acceptabilité au deuxième jour de stockage au réfrigérateur, ni avec ceux rapportés par Salmi & Sadok (2008), qui ont indiqué que les valeurs de l'ATB ne dépassaient pas cette limite à 18 jours de stockage des filets de thon emballés sous vide au réfrigérateur. En conséquence aux résultats de l'ATB, l'utilisation d'extrait d'origan en combinaison avec un emballage sous vide a été efficace pour retarder la formation de l'ATB dans les muscles blanc et rouge du filet de thon frégate, et peut contribuer à améliorer la stabilité à l'oxydation et à obtenir des valeurs d'ATB plus faibles tout au long de la période du stockage.

### **2.3.2.3. Hydrolyse des lipides (analyse des acides gras libres)**

Les acides gras libres (AGL), indicateurs de l'activité hydrolytique, peuvent s'accumuler pendant le stockage et par conséquent accélérer la détérioration de la qualité des produits de la mer (Etemadi et al., 2013 ; Shewfelt, 1981). La libération des AGL peut augmenter l'oxydation des lipides et le développement de saveurs désagréables et induire indirectement des changements de texture dus à la dénaturation des protéines (Shewfelt, 1981), qui sont largement associées à la perte de fraîcheur (Rodríguez et al., 2006).

Les valeurs initiales en AGL des filets du thon frégate étaient de 3.73 et 11.54 (% d'acide oléique) dans les muscles blanc et rouge, respectivement. Dans notre étude, la teneur en AGL augmentait avec le temps (tableau 10) ce qui pouvait être attribuée à l'activité lipase et phospholipase (Mazorra-Manzano et al., 2000 ; Whittle et al., 1990). Tout au long de la période de stockage, et indépendamment de l'utilisation ou non d'extraits de plantes, l'hydrolyse des lipides était significativement plus élevée ( $p < 0.05$ ) dans le muscle rouge que dans le muscle blanc. Cela pourrait être dû à la plus grande teneur en lipides et à l'activité enzymatique présente dans le muscle rouge que dans le muscle blanc. Cependant, des diminutions notables, suivies d'une augmentation, ont été observées que dans le muscle rouge aux 4<sup>e</sup> et 12<sup>e</sup> jours de stockage ce qui pourrait être lié à l'oxydation accrue des lipides, à l'interaction avec les protéines et / ou pourrait être attribuable à la croissance de certains micro-organismes utilisant les AGL comme source d'énergie (Anderson et Ravesi, 1968). Par contre, à chaque jour du prélèvement, l'application d'extraits de plantes a eu un effet signifi-

cativement important sur le développement de l'hydrolyse des lipides dans le muscle blanc et le muscle rouge et était significativement plus élevée ( $p < 0.05$ ) dans lot témoin que dans leurs homologues où l'extrait de plante a été employé. Ces résultats peuvent être attribués à l'effet des composés phénoliques de l'extrait d'origan qui inhibent l'action enzymatique libérant les AGL. En outre, l'utilisation de l'effet protecteur de l'extrait d'origan en combinaison avec l'emballage sous vide a eu un effet synergique retardant la formation de AGL dans les muscles du filet de thon frégate.

**Tableau 10.** Effet de l'application de l'extrait d'origan sur l'évolution des acides gras libres (AGL) des muscles blanc et rouge des filets de thon frégate conservés dans des conditions sous vides à température de réfrigération ( $3 \pm 1$  °C).

Durée de conservation (jours)	Paramètre	AGL (% acide oléique)	
	Echantillon	Témoin	Origan
0	B	3.73±0.05a,Y	3.73±0.05a,Y
	R	11.54±0.15a,X	11.54±0.15a,X
4	B	6.55±0.30a,Y	5.45±0.06b,Y
	R	9.47±0.83a,X	6.96±0.20b,X
8	B	7.80±0.17a,Y	5.75±0.40b,Y
	R	18.83±0.90a,X	14.43±0.52b,X
12	B	8.28±0.24a,Y	6.61±0.19b,Y
	R	15.65±0.83a,X	12.75±0.41b,X
15	B	8.42±0.03a,Y	7.61±0.18b,Y
	R	18.25±0.06a,X	13.99±0.11b,X
18	B	10.30±0.04a,Y	7.51±0.01b,Y
	R	20.53±0.37a,X	15.75±0.02b,X

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart-type, ( $n = 3$ ).

B: Muscle blanc, R: Muscle rouge.

a, b: Différentes lettres minuscules affectées sur les données dans la même ligne indiquent une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les traitements dans le même muscle.

X, Y: Différentes lettres majuscules affectées sur les données dans la même colonne indiquent une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les deux muscles du même traitement.

### 2.3.3. Analyses microbiologiques

Le tableau 11 représente l'évolution de la croissance microbienne dans les muscles du thon frégate lors du stockage réfrigéré dans des conditions de vide pour tous les traitements.

**Tableau 11.** Effet de l'application de l'extrait d'origan sur les bactéries aérobies mésophiles et les bactéries psychrotrophes dans les muscles blanc et rouge des filets de thon frégate conservés dans des conditions sous vides à température de réfrigération ( $3 \pm 1$  °C).

Durée de conservation (jours)	Paramètres	Bactéries aérobies mésophiles (log UFC/g)		Bactéries psychrotrophes (log UFC/g)		
		Echantillon	Témoin	Origan	Témoin	Origan
0	B		2.59±0.16a,Y	2.59±0.16a,Y	2.95±0.06a,X	2.95±0.06a,X
	R		3.31±0.15a,X	3.31±0.15a,X	2.86±0.10a,X	2.86±0.10a,X
4	B		3.55±0.08a,X	2.79±0.43b,X	3.74±0.31a,X	3.19±0.15b,X
	R		3.82±0.20a,X	3.31±0.21b,X	3.56±0.32a,X	3.32±0.36a,X
8	B		3.89±0.36a,X	3.35±0.32b,Y	4.12±0.12a,X	3.32±0.28b,X
	R		4.01±0.06a,X	3.87±0.19a,X	3.89±0.16a,X	3.59±0.25a,X
12	B		5.07±0.23a,X	4.36±0.31b,X	4.85±0.42a,X	4.15±0.21b,X
	R		4.93±0.13a,X	4.36±0.33b,X	4.64±0.30a,X	4.02±0.05b,X
15	B		7.05±0.04a,X	5.57±0.10b,X	5.75±0.21a,X	5.36±0.32a,X
	R		6.74±0.38a,X	5.11±0.12b,Y	6.04±0.08a,X	5.10±0.17b,X
18	B		7.39±0.17a,X	5.43±0.24b,X	5.93±0.10a,X	5.39±0.07b,X
	R		7.62±0.14a,X	5.29±0.11b,X	6.01±0.23a,X	5.56±0.09b,X

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart-type, ( $n = 3$ ).

B: Muscle blanche, R: Muscle rouge.

a, b: Différentes lettres minuscules affectées sur les données dans la même ligne indiquent une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les traitements dans le même muscle.

X, Y: Différentes lettres majuscules affectées sur les données dans la même colonne indiquent une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les deux muscles du même traitement.

Les charges initiales relevées des bactéries aérobies mésophiles des filets conditionnés sous vide étaient significativement faibles ( $p < 0.05$ ) dans le muscle blanc que dans le muscle rouge (2.59 et 3.31  $\log_{10}$  UFC / g pour les muscles blanc et rouge, respectivement). Guran et al. (2015), Koral et al. (2012) et Mbarki et al. (2008) rapportent des résultats similaires sans spécifier le site de prélèvement de filet de bonite de l'Atlantique (*S. sarda*). Les faibles

charges initiales obtenues dans cette étude indiquent la bonne qualité de poisson et pourraient être dues à l'effet du lavage à l'eau du robinet lors du filetage. La numération microbienne augmentait significativement ( $p < 0.05$ ) avec la durée de conservation de tous les échantillons. Au cours de la période de stockage, l'analyse statistique a indiqué que les taux des bactéries mésophiles ne sont pas affectées ( $p > 0.05$ ) par le type du muscle dans tous les traitements, même dans le lot témoin, probablement en raison de l'exclusion de l'oxygène de l'emballage. Cependant, les bactéries mésophiles se sont développées plus rapidement dans les lots témoins que dans les lots traités, indiquant un effet antibactérien de l'extrait de la plante utilisé sur les filets de poisson.

Les bactéries psychrotropes constituent le groupe principal de microorganismes responsables de la détérioration des produits frais de mer (Gram et Huss, 1996). Les faibles taux initiaux des bactéries psychrotrophes présentent dans les filets de thon de frégate emballés sous vide étaient respectivement de 2.95 et 2.86  $\log_{10}$  UFC / g pour les muscles blanc et rouge. Le taux des bactéries psychrotrophes était significativement supérieur au taux des bactéries aérobies mésophiles, comme rapporté par Etemadi et al. (2013), indiquant que les bactéries psychrotrophes prédominaient la flore bactérienne du poisson (Duan et al., 2010). Pendant toute la période de stockage, aucune différence significative ( $p > 0.05$ ) n'a été observée entre les taux des bactéries psychrotrophes des muscles blanc et rouge. Cependant, pendant presque la période de stockage, le taux de bactéries psychrotrophes dans les muscles blanc et rouge du lot traité était inférieur à celui de leurs homologues provenant du lot témoin, indiquant un effet antibactérien de l'extrait d'origan sur les filets de poisson.

La limite d'acceptabilité microbiologique établi ICMSF (1986) est de 7  $\log_{10}$  UFC / g pour le poisson frais. Néanmoins, plusieurs auteurs ont rapporté que la numération des bactéries mésophiles pouvait constituer un critère utile pour estimer le risque pour la santé de la présence d'histamine dans les poissons (Koral et al., 2012). Özyurt et al. (2011) ont signalé une bonne corrélation entre la teneur en histamine et la numération mésophile des bactéries. Du et al., 2002 ont également observé que la teneur en histamine augmentait rapidement avec le temps et au-delà du niveau maximum admissible d'histamine fixé par la FDA (2011) (5 mg / 100 g de poisson), lorsque le taux des bactéries mésophiles atteignait 6  $\log_{10}$  UFC / g.

Les taux des bactéries mésophiles et psychrotrophes ont dépassé cette limite dans les deux muscles du lot témoin uniquement le 15<sup>e</sup> jour de stockage. Ces résultats indiquent que la combinaison du filetage, des propriétés antibactériennes des composés phénoliques de cet extrait de plante utilisé et de l'élimination de l'oxygène des emballages a eu un effet bénéfique sur la réduction de la croissance des bactéries mésophiles et psychrotrophes pendant le stockage réfrigéré. D'autre part, la petite taille que procure le filet permet un refroidissement plus rapidement par rapport au poisson entier. De plus, le filetage augmentait également la surface et le contact avec l'air froid ainsi que les composés phénoliques. Quel que soit le type de muscle, une extension de la durée de conservation supérieure à 3 jours a été observée pour les lots traités avec de l'extrait d'origan par rapport aux lots témoins, comme indiqué précédemment par les évaluations sensorielles et l'ABVT.

#### **2.3.4. Variation de la texture / Analyse de profil de texture**

Les tableaux 12, 13 et 14 résument les moyennes et les écarts-types des valeurs de la dureté, la souplesse, l'adhésivité, la mâchabilité et la résilience analysées pour chaque jour de prélèvement.

L'analyse de profil de texture fait partie des attributs les plus importants pour l'évaluation de la fraîcheur du poisson en reproduisant l'action de la mâchoire (Abreu et al., 2016 ; Cheng et al., 2014). L'analyse de profil de texture est influencée dans la même espèce par plusieurs facteurs, notamment la taille et l'âge du poisson, la teneur en graisse, la densité des fibres musculaires, la méthode d'abattage et par d'autres facteurs post mortem tels que le rigor mortis, la protéolyse, les conditions microbiologiques et les conditions de stockage (Zhao et al., 2016).

La dureté, appelée également fermeté, est un indice vital qui dépend principalement de la structure du tissu conjonctif (Casas et al., 2006). Déterminée lors de la première compression, la dureté est la force nécessaire pour créer une déformation musculaire donnée (Martin et al., 2007). Dans tous les cas, la dureté a été significativement réduite ( $p < 0.05$ ) pendant la durée de stockage, ce qui indique que l'emballage sous vide ne peut pas maintenir la fermeté du filet à un niveau stable. Ce fait pourrait être dû au faible pH causant une dénaturation des protéines musculaires (Dunajski, 1979). Les valeurs de dureté du muscle

blanc étaient significativement plus élevées ( $p < 0.05$ ) que celles du muscle rouge. Ces différences entre la dureté des deux muscles pourraient être dues aux différences de composition (protéines, teneur en graisse et en eau) et à l'activité enzymatique. En outre, le muscle rouge a une activité protéolytique supérieure au muscle blanc (Shimizu et al., 1992).

**Tableau 12.** Effet de l'application de l'extrait d'origan sur dureté et la souplesse des muscles blanc et rouge des filets de thon frégate conservés dans des conditions sous vides à température de réfrigération ( $3 \pm 1$  °C).

Durée de conservation (jours)	Paramètres	Dureté		Souplesse	
		Echantillon	Témoin	Origan	Témoin
0	B	45.17±0.05a,X	45.17±0.05a,X	1.90±0.03a,Y	1.90±0.03a,Y
	R	45.02±0.11a,X	45.02±0.11a,X	1.97±0.02a,X	1.97±0.02a,X
4	B	44.49±0.37b,X	45.08±0.05a,X	1.59±0.03a,Y	1.65±0.14a,X
	R	43.11±0.10b,Y	43.94±0.10a,Y	1.98±0.01a,X	1.75±0.04b,X
8	B	40.08±0.81b,X	42.22±0.08a,X	1.70±0.02a,X	1.72±0.04a,X
	R	38.14±0.08b,Y	39.14±0.05a,Y	1.70±0.02a,X	1.71±0.03a,X
12	B	38.76±0.28b,X	41.06±0.05a,X	1.62±0.05b,X	1.75±0.06a,X
	R	37.56±0.50b,Y	39.14±0.15a,Y	1.67±0.02a,X	1.71±0.02a,X
15	B	35.29±0.26b,X	40.03±0.11a,X	1.53±0.03b,X	1.64±0.03a,X
	R	33.28±0.14b,Y	35.45±0.27a,Y	1.63±0.07a,X	1.65±0.02a,X
18	B	30.28±0.24b,X	35.84±0.18a,X	1.42±0.04a,Y	1.53±0.14a,X
	R	28.05±0.21b,Y	31.65±0.31a,Y	1.57±0.02a,X	1.48±0.02b,X

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart-type, ( $n = 3$ ).

B: Muscle blanche, R: Muscle rouge.

a, b: Différentes lettres minuscules affectées sur les données dans la même ligne indiquent une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les traitements dans le même muscle.

X, Y: Différentes lettres majuscules affectées sur les données dans la même colonne indiquent une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les deux muscles du même traitement.

Les muscles rouge et blanc prélevées des lots témoins étaient significativement ( $p < 0.05$ ) plus mous que leurs homologues traités tout au long de la période de stockage, ce qui indique que l'utilisation de l'extrait d'origan en combinaison avec l'emballage sous vide permet d'éviter le ramollissement des muscles de poissons et d'améliorer la dénaturation des protéines au cours du stockage réfrigéré.

La souplesse est la propriété de récupération de la hauteur du muscle de poisson entre la fin du premier et le début des secondes compressions (Martin et al., 2007). L'élasticité a diminué au fil du temps dans toute l'expérience et pourrait être attribuable aux cathepsines (Li et al., 2017). Au jour 0, la valeur d'élasticité du muscle blanc était significativement ( $p < 0.05$ ) inférieure à celle du muscle rouge. Cependant, aucune différence significative ( $p < 0.05$ ) de la souplesse des muscles blanc et rouge n'a été observée pendant le reste de la période de stockage. Aucune différence significative ( $p > 0.05$ ) dans les valeurs de souplesse des deux traitements n'a été observée tout au long de l'expérience. Ces résultats indiquent que l'extrait d'origan a un effet majeur sur la réduction de la souplesse du muscle rouge uniquement.

**Tableau 13.** Effet de l'application de l'extrait d'origan sur adhésivité et la mâchabilité des muscles blanc et rouge des filets de thon frégate conservés dans des conditions sous vides à température de réfrigération ( $3 \pm 1$  °C).

Durée de conservation (jours)	Paramètres	Adhésivité		Mâchabilité	
		Echantillon	Témoin	Origan	Témoin
0	B	0.21±0.03a,Y	0.21±0.03a,Y	1.15±0.04a,X	1.15±0.04a,X
	R	0.43±0.02a,X	0.43±0.02a,X	1.07±0.10a,X	1.07±0.10a,X
4	B	0.12±0.03a,Y	0.16±0.02a,Y	0.98±0.06a,X	1.08±0.05a,X
	R	0.31±0.03b,X	1.29±0.06a,X	1.01±0.01b,X	1.21±0.10a,X
8	B	0.11±0.04b,Y	1.17±0.03a,X	0.91±0.02a,X	0.92±0.06a,X
	R	1.19±0.02a,X	1.25±0.04a,X	0.90±0.11a,X	0.88±0.04a,X
12	B	1.07±0.05a,X	1.09±0.02a,X	0.80±0.01a,X	0.82±0.04a,X
	R	1.13±0.04a,X	1.14±0.06a,X	0.73±0.06a,X	0.74±0.06a,X
15	B	1.03±0.05a,X	1.12±0.05a,X	0.75±0.13b,X	0.85±0.06a,X
	R	1.07±0.02b,X	1.17±0.02a,X	0.64±0.02a,X	0.72±0.04a,Y
18	B	0.90±0.10a,X	0.83±0.02a,X	0.62±0.03b,X	0.69±0.04a,X
	R	1.05±0.04a,X	0.90±0.04b,X	0.56±0.04a,X	0.62±0.04a,X

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart-type, ( $n = 3$ ).

B: Muscle blanche, R: Muscle rouge.

a, b: Différentes lettres minuscules affectées sur les données dans la même ligne indiquent une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les traitements dans le même muscle.

X, Y: Différentes lettres majuscules affectées sur les données dans la même colonne indiquent une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les deux muscles du même traitement.

L'adhésivité est le travail nécessaire pour extraire le piston de compression de l'échantillon (Friedman et al., 1963). Une diminution significative de l'adhésivité du muscle blanc des lots traités et témoins a été observée jusqu'aux 4<sup>e</sup> et 8<sup>e</sup> jours de stockage, respectivement, suivie d'une augmentation marquée de ces valeurs le jour du test suivant. La même tendance a été observée pour le muscle rouge, où l'adhésivité a augmenté de façon marquée aux 4<sup>e</sup> et 8<sup>e</sup> jours dans le lot traité et dans le lot témoin, respectivement. Des différences significatives ( $p < 0.05$ ) d'adhérence ont été observées entre les traitements des muscles rouge et blanc uniquement aux jours 4 et 8 de la période de stockage, respectivement, où chaque muscle des lots traités était significativement ( $p < 0.05$ ) plus élevée que son homologue des lots témoins.

**Tableau 14.** Effet de l'application de l'extrait d'origan sur la résilience des muscles blanc et rouge des filets de thon frégate conservés dans des conditions sous vides à température de réfrigération ( $3 \pm 1$  °C).

Durée de conservation (jours)	Paramètres	Résilience	
	Echantillon	Témoin	Origan
0	B	0.003±0.001a,X	0.003±0.001a,X
	R	0.001±0.000a,Y	0.001±0.000a,Y
4	B	0.005±0.000a,X	0.004±0.001a,X
	R	0.001±0.000a,Y	0.001±0.001a,Y
8	B	0.010±0.003a,X	0.005±0.005a,X
	R	0.000±0.000a,Y	0.001±0.000a,Y
12	B	0.001±0.001a,X	0.004±0.001b,X
	R	0.001±0.000a,X	0.001±0.001a,Y
15	B	0.002±0.001a,X	0.003±0.002a,X
	R	0.000±0.000a,Y	0.001±0.001a,X
18	B	0.003±0.002a,X	0.002±0.001a,X
	R	0.000±0.000 a,Y	0.000±0.000 a,Y

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart-type, ( $n = 3$ ).

B: Muscle blanche, R: Muscle rouge.

a, b: Différentes lettres minuscules affectées sur les données dans la même ligne indiquent une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les traitements dans le même muscle.

X, Y: Différentes lettres majuscules affectées sur les données dans la même colonne indiquent une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les deux muscles du même traitement.

La mâchabilité est le travail requis pour mastiquer un aliment solide afin de le rendre à un état stable de déglutition (Zhao et al., 2016 ; Martin et al., 2007). La mâchabilité était affectée dans tous les échantillons et diminuait avec le temps de conservation. Aucune différence significative ( $p > 0.05$ ) dans la valeur de mâchabilité des muscles blanc et rouge n'a été observée tout au long du stockage. Les données statistiques ont montré que le traitement n'affectait pas la mâchabilité des deux muscles, ce qui indique que l'application d'extrait d'origan en combinaison avec l'emballage sous vide ne peut pas améliorer la mâchabilité des filets de thon frégate.

L'élasticité des muscles du poisson, donnée en résilience, était significativement ( $p < 0.05$ ) plus élevée dans le muscle blanc que dans le muscle rouge tout au long de l'expérience. Quels que soient les types de muscle, les changements de résilience dans le temps n'étaient pas significatifs ( $p > 0.05$ ) entre les deux traitements. Par conséquent, l'application combinée d'origan et d'emballage sous vide n'a pas affecté l'élasticité des muscles blanc et rouge. En conséquence des résultats de l'analyse du profil de texture, les données regroupées à partir des lots témoins ont montré que la détérioration de la texture des muscles blanc et rouge augmentait avec le temps de conservation.

Ainsi, l'emballage sous vide ne peut à lui seul améliorer les paramètres de texture des muscles du thon frégate. L'utilisation combinée de l'emballage sous vide et de l'extrait d'origan peut affecter les paramètres de texture et n'a d'effet majeur que sur la dureté, la souplesse et l'adhésivité des muscles blanc et rouge des filets de thon frégate.

## Conclusion générale

Notre pays possède une biodiversité absolue ou chaque plante se caractérise par un réservoir important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières, qui ne demandent qu'à être exploitées.

L'objectif fondamental de ce travail de thèse s'inscrit dans un axe qui porte d'une part sur la connaissance et la valorisation des plantes médicinales et aromatiques en Algérie, et l'allongement de la durée de conservation d'une denrée alimentaire d'origine animale : les filets de thon frégate (*Auxis thazard*) d'autre part.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à l'extraction par macération éthanolique des composés phénoliques à partir des broyats des parties aériennes d'origan, au dosage des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes et à l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait naturel d'origan. Les résultats obtenus ont permis de constater que le rendement d'extraction de la plante étudiée était de 8.41 %. Ce rendement reste acceptable et satisfaisant en le comparant avec les rendements d'extraction de la même plante obtenus dans d'autres régions et parfois par d'autres conditions d'extraction. Notre extrait naturel d'origan était relativement riche en polyphénols totaux et pauvre en flavonoïdes avec une teneur de 164.96 mg EAG/g et 44.61 EQ/g d'extrait d'origan, respectivement. Le potentiel antioxydant déterminé par la méthode de DPPH a montré que notre extrait naturel d'origan possédait une bonne activité anti radicalaire et pourrait être considéré comme un antioxydant puissant ( $IC_{50}$  de 90.04  $\mu$ g/ml).

A l'issue de cette première partie, les extraits de plante sont des substances aromatiques avec une composition chimique complexe qui leur confère des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes très intéressantes et nous pensons que notre extrait naturel d'origan pourrait constituer une alternative prometteuse pour réduire l'auto-oxydation des aliments en général et des produits de la pêche en particulier. Cependant, il serait intéressant de compléter nos résultats par l'évaluation de l'activité antibactérienne *in-vitro* et par le dosage des composés volatiles par Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP) afin de déterminer et de quantifier les constituants phénoliques individuels dans l'extrait.

Dans un second temps, nous avons évalué l'effet potentiel de la combinaison de quelques techniques de conservation sur la préservation des filets de poisson.

Plusieurs indices de qualité étaient plus élevés dans le muscle rouge que dans le muscle blanc, alors que ce dernier était plus exposé à l'oxydation des lipides que le muscle rouge. Cependant, l'évolution de la qualité des deux muscles présentait la même tendance et était significativement affectée par le temps de stockage ainsi que par la présence d'extrait de plante dans l'emballage sous vide.

Les résultats des données microbiologiques ont montré que la charge microbienne n'était pas affectée par le type de muscle pendant le stockage réfrigéré. En conséquence, tant que la peau et les muscles blancs fournissent ensemble un environnement protecteur pour le muscle rouge, comme dans le cas du filet intact ou même dans le cas du poisson entier, une prise d'essai prélevée à partir de la partie dorsale du muscle blanc de l'échantillon de laboratoire pourrait être suffisante pour estimer la qualité microbiologique du produit analysé.

L'évaluation sensorielle a montré que les filets du groupe témoin avaient une durée de conservation de 12 jours, tandis que ceux stockés en combinaison avec l'extrait d'origan avaient une durée de conservation de 18 jours. L'application d'un agent de conservation naturel tel que l'extrait d'origan sur les muscles blanc et rouge du filet de thon en combinaison avec l'emballage sous vide et la réfrigération a montré une qualité physicochimique et microbiologique satisfaisante en raison des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de l'extrait appliqué. Toutefois, elle n'a pas pu éviter la détérioration de la texture dans les deux muscles.

Nous pouvons dire que la combinaison des techniques de conservation peut retarder davantage la dégradation de la fraîcheur des produits de la pêche car elle a un effet cumulatif prometteur, que l'industrie de la transformation pourrait utiliser pour prolonger la durée de conservation de ses produits.

L'utilisation d'extraits naturels de plantes à des concentrations plus élevées est probablement susceptible de prolonger la durée de conservation des produits de pêche, mais

cette utilisation présenterait certainement l'inconvénient d'être sensoriellement perceptible par le consommateur.

De nouvelles perspectives peuvent être envisagées par l'utilisation d'autres extraits de plantes ou de leurs composants majoritaires en application seul ou en mélange permettant une éventuelle synergie.

L'utilisation d'extraits de plantes dans d'autre type d'emballage tel que l'emballage en atmosphère modifié ou leurs incorporations avec des films d'emballage biodégradables ou bioactifs pour ralentir la détérioration, maintenir la qualité et augmenter significativement la durée de conservation des produits de la pêche pourrait être envisagée dans le domaine de l'industrie agro-alimentaire.

## **Références bibliographiques**

1. Abderrazak, M. & Joël, R. (2007). *La botanique de A à Z*. Ed. Dunod. Paris. 177p.
2. Abraha, B., Admassu, H., Mahmud, A., Tsighe, N., Shui, X.W. & Fang, Y. (2018) Effect of processing methods on nutritional and physicochemical composition of fish: A review. *MOJ Food Processing and Technology*, 6(4): 376-382.
3. Achat, S. (2013). Polyphenols de l'alimentation: Extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques. Thèse de Doctorat. Avignon, Université d'Avignon et des pays de Vaucluse. pp. 5.
4. Aksnes, A. & Brekken, B. (1988). Tissue degradation, amino acid liberation and bacterial decomposition of bulk stored capelin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 45: 53-60.
5. Aksnes, A., Gjerde, B. & Roald, S.O. (1986). Biological, chemical and organoleptic changes during maturation of farmed atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, 53: 7-20.
6. Anderson, M., & Ravesi, E. (1968). Relation between protein extractability and free fatty acid production in cod muscle aged in ice. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 25(10): 2059-2069. <http://dx.doi.org/10.1139/f68-183>.
7. Antonocopoulos, N. (1973). Bestimmung des Flüchtigen Basensticktoofs. In W. Ludorf & V. Meyer (Eds.), *Fische und Fischerzeugnisse* (pp. 224–225). Berlin: Aulage Verlag Paul Prey.
8. AOAC (1984). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 14th Ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
9. AOAC (1990). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15th Ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
10. AOCS (1994). The official methods and recommended practices of the American Oil Chemists'. Champaign, IL: The American Oil Chemists' Society, pp. Ca 5a-40, Cd 8-53.
11. Arashisar, Ş., Hisar, O., Kaya, M., & Yanik, T. (2004). Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) filets. *International Journal of Food Microbiology*, 97(2): 209-214. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.024>.

12. Ariyawansa, K., Wijendra, D., & Senadheera, S. (2003). Quality Index Method developed for Frigate tuna (*Auxis thazard*). *Sri Lanka Journal of Aquatic Sciences*, 8(1): 95-109. <http://dx.doi.org/10.4038/sljas.v8i1.7495>.
13. Asghari, M., Shabanpour, B. & Pakravan, S. (2014) Evaluation of some qualitative variations in frozen fillets of beluga (*Huso huso*) fed by different carbohydrate to lipid ratios. *Journal of Food Sciences and Technology*, 51(3): 430-439.
14. Assogba, M. H. M., Ahounou, S. G., Bonou, G. A. , Salifou, C. F. A., Dahouda, M., Chikou, A., Farougou, S. & Youssao Abdou Karim, I. (2018). Qualité de la chair des poissons : Facteurs de variations et impacts des procédés de transformation et de conservation. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies*, 10(2): 333-358.
15. Awa, D., Konan, Y., Youssouf, S., Honora, T. B. F., Adama, B. & Witabouna, K. M. (2018). Pouvoir antioxydant et teneurs en composés phénoliques de deux espèces du genre *Albertisia*: *Albertisia cordifolia* (Mangenot & J. Miège) Forman et *Albertisia scandens* (Mangenot & J. Miège) Forman (*Menispermaceae*). *European Scientific Journal*, 14(30): 128-144. <http://dx.doi.org/10.19044/esj.2018.v14n30p128>
16. Azhar, K. F. & Nisa, K. (2006). Lipids and their oxidation in seafood. *Journal- Chemical Society of Pakistan*, 28(3): 298-305.
17. Barile, L.E., Estrada, M.H., Milla, A.D., Reilly, A. & Villadsen, A. (1985). Spoilage patterns of mackerel (*Rastrelliger faughni Matsui*) 2. Mesophilic and psychrophilic spoilage. *ASEAN Food Journal*, 1 : 121–126.
18. Battu, C. (2014). Prise en charge nutritionnelle d'un adulte présentant une hypertension artérielle. *Actualités Pharmaceutiques*, 53(535): 55–58. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actpha.2014.02.013>
19. Benchikha, N. B., Menaceur, M. & Barhi, Z. (2013). Extraction and antioxidant activities of two species *Origanum* plant containing phenolic and flavonoid compounds. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 5(1):120-128.
20. Bendiksen, E. A., & Jobling, M. (2003). Effects of temperature and feed composition on essential fatty acid (n-3 and n-6) retention in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). *Fish*

- Physiology and Biochemistry*, 29(2): 133–140.  
<http://dx.doi.org/10.1023/b:fish.0000035937.68098.83>
21. Bensid, A. (2014). Etude des effets d'extraits de plantes sur la formation de biofilms au niveau des surfaces et équipements de la halle à marée de la Wilaya de Boumerdes ainsi que sur les paramètres de qualité des anchois méditerranéens (*Engraulis encrasicolus*). Thèse de Doctorat. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger. pp. 33.
  22. Beta, T., Nam, S., Dexter, J. E. & Sapirstein, H.D., (2005). Phenolic Content and antioxidant activity of Pearled Wheat and Roller-Milled fractions. *Cereal Chemistry*, 82(4): 390-393.
  23. Bielsky, B. H., Arudi, R. L. & Sutherland, M. W. (1983). A study of the reactivity of H<sub>2</sub>O / O<sub>2</sub>- With unsaturated fatty acids. *Journal of Biology and Chemistry*, 258: 4759-4761.
  24. Bilinski, E. 1974. Biochemical aspects of fish swimming. In: Biochemical and biophysical perspectives in marine biology Vol. 1. (pp. 239-288). D. C. Malins & J. R. Sargent ed. Academic Press, London.
  25. Bilinski, E., & Jonas, R. (1964). Utilization of lipids by fish: II. Fatty acid oxidation by a particulate fraction from lateral line muscle. *Canadian Journal of Biochemistry*, 42(3), 345-352. <http://dx.doi.org/10.1139/o64-041>.
  26. Bligh, E., & Dyer, W. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 37(8): 911-917. <http://dx.doi.org/10.1139/y59-099>.
  27. Body, D.R. & Vlieg, P. (1989). Distribution of the lipid classes and eicosapentaenoic (20:5) and docosahexaenoic (22:6) acids in different sites in blue mackerel (*Scomber australasicus*) fillets. *Journal of Food Science*, 54: 569-572.
  28. Boizot, N. & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. pp: 79-82.
  29. Bouhdid, S., Abrini, J., Amensour, M., Zhiri, A., Espuny, M. J. & Manresa, A. (2010). Functional and ultra-structural changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by *Cinnamomum verum* essential oil. *Journal of Applied Microbiology*, 109: 1139–1149.

30. Bourgeois, C. M. & Larpent, J. P. (1996). Microbiologie alimentaire, aliments fermentés et fermentations alimentaires. Paris: Lavoisier Technique & documentation, 2<sup>ème</sup> édition, 523p.
31. Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Abrini, J. & Dakka, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 16(1): 173-183. doi:10.1007/s10298-017-1118-z
32. Britz, P. J., Hecht, T. (1997). Effect of dietary protein and energy level on growth and body composition of South African abalone, *Haliotis midae*. *Aquaculture*, 156(3-4): 195-210.
33. Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Technique et documentation. Lavoisier Ed., Paris, pp. 418-419.
34. Bucic-Kojic, A., Planinic, M., Tomas, S., Bilic M. & Velic, D. (2007). Study of solid–liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. *Journal of Food Engineering*, 81(1): 236-242.
35. Buettner, G. R. (1993). The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol and ascorbate. *Arch Biochemistry and Biophysic*, 300: 535-543.
36. Bulushi, I., Poole, S., Deeth, H., & Dykes, G. (2009). Biogenic amines in fish: Roles in intoxication, spoilage, and nitrosamine formation—A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(4): 369-377. <http://dx.doi.org/10.1080/10408390802067514>.
37. Bureau, G., Pascat, B. & Tissot, L. (1987). Conditionnement et qualité: Conditionnement sous vide ou sous atmosphère modifiée et qualité bactériologique. *Viandes et Produits Carnés*, 8(5): 166-167.
38. Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3): 223-253. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>.
39. Caillet S. & Lacroix M. (2007). Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. *L'actualité alimentaire*, 4(2): 1-8.

40. Calder, P.C., Ahluwalia, N., Brouns, F., Buetler, T., Clement, K., Cunningham, K., Esposito, K., Jonsson, L.S., Kolb, H., Lansink, M., Marcos, A., Margioris, A., Matusheski, N., Nordmann, H., O'Brien, J., Pugliese, G., Rizkalla, S., Schalkwijk, C., Tuomilehto, J., Warnberg, J., Watzl, B. & Winklhofer-Roob, B.M. (2011). Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. *British Journal of Nutrition*, 106: 1-78.
41. Casas, C., Martinez, O., Guillen, M., Pin, C., & Salmeron, J. (2006). Textural properties of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) at three points along the fillet, determined by different methods. *Food Control*, 17(7): 511-515. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.02.013>.
42. Catier, O., Roux, D. (2007). *Botanique pharmacognosie phytothérapie*. 3ème Ed. Wolters Kluwar, Londres, 96p.
43. Chaijan, M., Klomklao, S., & Benjakul, S. (2013). Characterisation of muscles from Frigate mackerel (*Auxis thazard*) and catfish (*Clarias macrocephalus*). *Food Chemistry*, 139(1-4): 414-419. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.111>.
44. Cheng, J., Sun, D., Han, Z., & Zeng, X. (2013). Texture and structure measurements and analyses for evaluation of fish and fillet freshness quality: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(1): 52-61. <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12043>.
45. Cheptel, J. C. & Cheptel, H. (1976). *Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments*, Vol. 1, Technique et Documentation, Entreprise Moderne d'Édition, Paris. 85p.
46. Chiba, A., Hamaguchi, M., Kosaka, M., Tokuno, T., Asai, T. & Chichibu, S. (1991). Quality Evaluation of Fish Meat by 31 Phosphorus-Nuclear Magnetic Resonance, *Blackwell Publishing, Ltd*, 56: 660-664.
47. Chrpová, D., Kouřimská, L., Gordon, M. H., Heřmanová, V., Roubíčková, I. & Pánek, J. (2010). Antioxidant activity of selected phenols and herbs used in diets for medical conditions. *Czech Journal of Food Sciences*, 28(4): 317–325.
48. Church, N. (1998). MAP fish and crustaceans - sensory enhancement. *Food Science and Technology Today*, 12(2): 73-83.

49. Cillard J. & Cillard P., 2006. Mécanismes de la peroxydation lipidique et des antioxydations. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 13(1): 24-29.
50. Comhair, S. A. & Erzumus, C. (2002). Antioxydant response to oxidant mediated long diseases. *American Journal of physiology*, 283: 246-255.
51. Connor, W.E., (2000). Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *International Journal of Clinical Nutrition*, 71(1): 171-175.
52. Corraza, G. & Kaushik, S. (1999). Les lipides des poissons marins et d'eau douce. *Oléagineux, Corps gras et Lipides*, 6(1) : 111-115.
53. Cristiani, M., D'Arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M.G. & Micieli, D. (2007). Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 6300-6308.
54. Cuvelier, M. E. & Maillard, M. N. (2012). Stabilité des huiles alimentaires au cours de leur stockage. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 19(2): 125-132. <http://dx.doi.org/10.1051/ocl.2012.0440>
55. Dalgaard, P., (1995). Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish. *International Journal of Food Microbiology*, 26: 319-333.
56. Dalgaard, P., Gram, L. & Huss, H.H. (1993). Spoilage and shelf life of cod fillets packed in vacuum or modified atmosphere. *International Journal of Food Microbiology*, 19: 283-294.
57. Davis, J. (1985). *A leap forward in fresh fish marketing: the darfresh packaging concept*. In: Aptitude à la conservation des poissons et produits de la mer réfrigérés et congelés, Institut International du Froid, Paris, pp. 403-408.
58. De Abreu, D., Lago, M., Sartal, A., de Quirós, A., & Sendon, R. (2016). Evaluation of the effectiveness of a paper containing nanoparticles of silver combined with moisture absorbers over quality of tuna snacks. *Journal of Food Chemistry and Nanotechnology*, 2(2): 85-91. <http://dx.doi.org/10.17756/jfcn.2016-016>.
59. De Boer, A.A., Ismail, A., Marshall, K., Bannenberg, G., Yan, K. L. and Rowe, W.J. (2018) Examination of marine and vegetable oil oxidation data from a multi-year, third-party database. *Food Chemistry*, (254): 249-255.

60. De Souza, N.E., Matsushita, M., De Oliveira, C. C., Franco, M. R. B., & Visentainer, J. V. (2007). Manipulation of fatty acid composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets with flaxseed oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 1677-1681.
61. Dean, J. (1969). The metabolism of tissues of thermally acclimated trout (*Salmo gairdneri*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 29(1): 185-196. [http://dx.doi.org/10.1016/0010-406x\(69\)91734-4](http://dx.doi.org/10.1016/0010-406x(69)91734-4).
62. Devaraju, A. N. & Setty, T. M. R. (1985). Comparative study of fish bacteria from tropical and cold/temperate marine waters. Spoilage of tropical fish and product development. FAO Fisheries Report.
63. Dinçer, M., & Çakli, Ş. (2015). Textural acceptability of prepared fish sausages by controlling textural indicators. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 39: 364-368. <http://dx.doi.org/10.3906/vet-1307-38>.
64. Domadia, P., Swarup, S. & Bhunia, A. (2007). Inhibition of bacterial cell division protein FtsZ by cinnamaldehyde. *Biochemical Pharmacology*, 74: 831–840.
65. Donald, B. & Gibson, D. (1992). Spoilage of MAP salmon steaks stored at 5 °C. EEC report on the FAR projet UP-2–545. Torry Research Station, Aberdeen, Ecosse.
66. Dorman HJD, Peltoketo A, Hiltunen R, Tikkanen MJ (2003). Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected *Lamiaceae* herbs. *Food Chemistry*, 83: 255–262.
67. Dorman, H. J. D. & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2): 308-316.
68. Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Review*, 82: 47-95.
69. Du, W., Lin, C., Phu, A., Cornell, J., Marshall, M., & Wei, C. (2002). Development of biogenic amines in Yellowfin tuna (*Thunnus albacares*): Effect of storage and correlation with decarboxylase-positive bacterial flora. *Journal of Food Science*, 67(1): 292-301. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11400.x>.
70. Duan, J., Cherian, G., & Zhao, Y. (2010). Quality enhancement in fresh and frozen lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets by employment of fish oil incorporated chitosan

- coatings. *Food Chemistry*, 119(2): 524-532.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.055>.
71. Ducarme, C. & Micha, J. C. (2003). Technique de production intensive du poisson chat africain, *Clarias gariepinus*. *Tropicultura*, 21(4): 189-198.
72. Dunajski, E. (1979). Texture of fish muscle. *Journal of Texture Studies*, 10(4): 301-318.  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4603.1980.tb00862.x>.
73. Dyer, W. J. & Fraser, D. I. (1959). Proteins in Fish Muscle: Lipid Hydrolysis. *Journal of Fisheries Research Board of Canada*, 16: 43-52.
74. Edris, A. E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy research*, 21(4): 308-323.
75. El Rammouz, R., Abboud, J., Abboud, M., El Mur, A., Yammine, S., & Jammal, B. (2013). pH, rigor mortis and physical properties of fillet in fresh water fish: the case of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Applied Sciences Research*, 9(11): 5746-5755.
76. Erdem, M., Kalayci, F., Duyar, H., & Samsun, S. (2009). Shelf life and biochemical composition of bonito fish (*Sarda sarda*, Bloch, 1758) stored at 4 °C and fishing with different fishing tools. *Journal of Muscle Foods*, 20(2): 242-253.  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4573.2009.00148.x>.
77. Erkan, N., Özden, Ö., & Inuğur, M. (2007). The effects of modified atmosphere and vacuum packaging on quality of chub mackerel. *International Journal of Food Science & Technology*, 42: 1297-1304. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01325.x>
78. Ertürk, Ö., Kati, H., Yayli, N., & Demirbag, Z. (2003). Antimicrobial activity of *Viscum album* L. subsp. abietis (Wiesb). *Turkish Journal of Biology*, 27(4): 255–258.
79. Escribano-Bailon, M. T. & Santos-Buelga, C. (2003). *Polyphenol extraction from foods*. In: Santos Buelga, C. and Williamson, G. (eds). *Methods in polyphenol analysis*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom. pp. 1-16.
80. Etemadi, H., Rezaei, M., Abedian, Kenari, A. M., & Hosseini, S. F. (2013). Combined effect of Vacuum Packaging and sodium acetate dip treatment on shelf life extension of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during refrigerated storage. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15(5): 929-939.

81. Eymard, S. (2003). Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés. Thèse de Doctorat. Ecole polytechnique de l'Université de Nantes. pp. 13-29.
82. Fan, W., Chi, Y., & Zhang, S. (2008). The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. *Food Chemistry*, 108(1): 148-153. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.057>.
83. Favier, A. (2003). Le stress oxydant : Interêt conceptuel et expérimental des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Acta Chimica*, 56 : 108-115.
84. Fernandes, R. P. P., Trindade, M. A., Tonin, F. G., Lima, C. G., Pugine, S. M. P., Munekata, P. E. S., Lorenzo, J. M. & De Melo, M. P. (2016). Evaluation of antioxidant capacity of 13 plant extracts by three different methods: cluster analyses applied for selection of the natural extracts with higher antioxidant capacity to replace synthetic antioxidant in lamb burgers. *Journal of Food Sciences and Technology*, 53(1): 451–460. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-015-1994-x>.
85. Fernández, J., Pérez-Álvarez, J. A., & Fernández-López, J. A. (1997). Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*, 59(3): 345-353. [http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146\(96\)00114-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146(96)00114-8).
86. Fernandez, S. J. & Mackie, I. (1987). Comparative rates of spoilage of fillets and whole fish during storage of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and herring (*Clupea harengus*) as determined by the formation of non-volatile and volatile amines. *International Journal of Food Science and Technology*, 22: 385-390.
87. Fickers, P., Destain, J. & Thonart, P. (2008). Les lipases sont des hydrolases atypiques : principales caractéristiques et applications. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 12(2): 119-130.
88. Food and Drug Administration. (2011). Scombrototoxin (Histamine) Formation. In: fish and fishery products hazards and controls guidance. 4th Ed. (pp. 113-151). Food and Drug Administration, Washington D.C.
89. Franco, D. J. S., Rubilar, M., Sanchez, M., Jerez, M., Pinelo, M. N. C. & Nunez, M. J. (2008). Polyphenols from plant materials: Extraction and antioxidant power. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 7: 3210-3216.

90. Frankel, E. N. (1984). *Lipid oxydation*. The Oily Press, 10. Dundee, Scotland, p. 10.
91. Frankel, E. N. (1996). Antioxidants in lipids and their impact on the food quality. *Food chemistry*, 57: 51-55.
92. Friedman, H., Whitney, J., & Szczesniak, A. (1963). The texturometer? A new instrument for objective texture measurement. *Journal of Food Science*, 28(4): 390-396. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1963.tb00216.x>.
93. Fuhrman, B., Lavy, A. & Aviram, M. (1995). Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 61: 549-554.
94. Fylaktakidou, K. C., Hadjipavlou-Litina, D. J., Litinas, K. E. & Nicolaidis, D. N. (2004). Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory/antioxidant activities. *Current Pharmaceutical Design*, 10(30): 3813-3833.
95. Gardner, H.W. (1979). Lipid hydroperoxide reactivity with proteins and amino acids: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 27: 220-229.
96. Gawlic-Dziki, U. (2012). Dietary spices as a natural effectors of lipoxygenase, xanthine oxidase, peroxidase and antioxidant agents. *LWT Food Science Technology*, (47): 138–146.
97. Genç, İ., Esteves, E., Aníbal, J., & Diler, A. (2013). Effects of chilled storage on quality of vacuum packed meagre fillets. *Journal of Food Engineering*, 115 (4): 486-494. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.09.007>.
98. Genot, C., Meynier, A., riaublanc, A. & Chobert, J. M. (2003). Protein alterations due to lipid oxydation in multiphase system. In: *Lipid oxidation pathways*, Kama-Eldin, A. (Ed.), AOACS Press Champaign, pp: 265-292.
99. George, J. C. & Bokdawala F. D. (1964). Cellular organization and fat utilization in fish muscle. *Journal of Animal Morphology and Physiology*, 11: 124-132.
100. George, J., & Don Stevens, E. (1978). Fine structure and metabolic adaptation of red and white muscles in tuna. *Environmental Biology of Fishes*, 3(2): 185-191. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00691942>.
101. German, J. B. & Kinsella, J. E. (1985). Lipid oxidation in fish tissue. Enzymatic initiation via lipoxygenase. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 33: 680-683.

102. Ghaly, A. E., Dave, D., Budge, S. & Brooks, M. S. (2010). Fish Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: Review. *Brooks American Journal of Applied Sciences*, 7: 859-877.
103. Gola, S. & Rossi, M. (1985). Vacuum packaging of fresh fish: effect of oxygen permeability of packaging material on the development of botulinal toxin. In : Aptitude à la conservation des poissons et produits de la mer réfrigérés et congelés, Institut International du Froid, Paris, pp. 211-215.
104. Gomez-Caravaca A.M., Gomez-Romero M., Arreez-Romen D., Segura-Carretero A. & Fernandez-Gutierrez A., (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmacological and Biomedical Analysis*, (41): 1220-1234.
105. Gomez-Requeni, P., Mingarro, M., Calduch-Giner, J.A., Medale, F., Martin, S.A.M., Houlihan, D.F., Kaushik, S. & Perez-Sanchez, J. (2004). Protein growth performance, amino acid utilisation and somatotropic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 232: 493-510.
106. Goulas, A., & Kontominas, M. (2007). Effect of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on the shelf-life of refrigerated chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *European Food Research and Technology*, 224(5): 545-553. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-006-0316-y>.
107. Gram, L., & Huss, H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*, 33 (1): 121-137. [http://dx.doi.org/10.1016/0168-1605\(96\)01134-8](http://dx.doi.org/10.1016/0168-1605(96)01134-8).
108. Gram, L., Trolle, G. & Huss, H.H. (1987). Detection of specific spoilage bacteria on fish stored at high (20°C) and low (0°C) temperatures. *International Journal of Food Microbiology*, 4: 65–72.
109. Gram, L., Wedell-Neergaard, C. & Huss, H.H. (1990). The bacteriology of fresh and spoiling Lake Victorian Nile perch (*Lates niloticus*). *International Journal of Food Microbiology*, 10 : 303–316.
110. Grandjean, D. (2001). Le stress oxydatif cellulaire chez le chien : conséquences et prévention nutritionnelle. *Bulletin Académie Vétérinaire de France*, 154(3) : 49-61.

111. Guesnet, P., Alessandri, J-M., Vancassel, S., Denis, I., & Lavalie, M. (2005). Acides gras oméga 3 et fonctions cérébrales. *Nutrition clinique et métabolisme*, 19: 131-134.
112. Guiraud, J. P. (1998). Microbiologie alimentaire. Dunod, Paris, France,
113. Gunasekera, R.M., Shim, K.F. and Lam, T.J. (1997). Influence of dietary protein content on the distribution of amino acids in oocytes, serum and muscle of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, 152: 205-221.
114. Guran, H. S., Oksuztepe, G., Coban, O. E., & Incili, G. K. (2015). Influence of different essential oils on refrigerated fish patties produced from bonito fish (*Sarda sarda* Bloch, 1793). *Czech Journal of Food Sciences*, 33(1): 37-44. <http://dx.doi.org/10.17221/188/2014-cjfs>.
115. Habtemariam, S., (2003). Cytotoxic and cytostatic activity of erlangerins from *Commiphora erlangeriana*. *Toxicon*, 41 (6): 723-727.
116. Halliwell, B. (1990). How to characterize a biological antioxidant. *Free Radical Research Communication*, 13: 1-32.
117. Hamia, C., Guergab, A., Rennane, N.E., Birache, M., Haddad, M., Said, i M. & Yousfi, M. (2014). Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du *Rhanterium adpressium*. *Annales des Sciences et Technologie*, (47): 33-38.
118. Harborne, J. B., Simmonds, N. W. (1964). Biochemistry of Phenolic Compounds, Academic Press, London, pp. 101.
119. Hauschild, A., Poste, L. & Hilsheimer, R. (1985). Toxin production by *Clostridium botulinum* and organoleptic changes in vacuum packaged raw beef. *Journal of Food Protection*, 48(8): 712-716.
120. Hielmland, K., Christie, M. & J. Raa, J. (1983). Skin mucous protease from rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Fish Biology*, 23: 13-22.
121. Hirasu, K. & Takemasa, M. (1998). *Spice science and technology*. Ed. Marcel Dekker, New York, 1184p.
122. Hsieh, R. J., Kinsella, J. E. & John, E. K. (1989). Oxidation of Polyunsaturated Fatty Acids: Mechanisms, Products, and Inhibition with Emphasis on Fish. *Advances in Food and Nutrition Research*, 33: 233-341.

123. Hsieh, R. J. & Kinsella, J. E. (1989). Lipoxygenase Generation of specific volatile flavor carbonyl compounds in fish tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37: 279-286.
124. Hughes, R. B. & Jones, N. R. (1966). Measurement of hypoxanthine concentration in canned herring as an index of the freshness of the raw material, with a comment on flavor relations. *Journal of Sea Food Agree*, 17: 434-436.
125. Hultin, H. O. (1992). Lipid Oxidation in Fish Muscle. In: *Advances in seafood biochemistry: Composition and quality*. Flick, G.J. & Martin, R.E. (Eds.), Technomics Publishing Compagny Inc, Lancaster. pp. 99-122.
126. Hultin, H.O. (1994). Oxidation of lipids in seafoods. In: *Seafoods: Chemistry, processing technology and quality*, F. Shahidi & J.F. Botta (Eds.), Springer, Boston, USA, pp. 49-74.
127. Huss H.H. & Asenjo, L. (1976). Storage life of gutted and unsoiled white fish. In: Annual repport technological laboratory, Danish Ministry of Fisheries, Technical University, Lullaby, Denmark.
128. Huss, H. H. (1988). *Le Poisson frais: qualité et altérations de la qualité*. FAO, Ed. Collection n°29, Rome, Italie, 118p.
129. Huss, H. H. (1995). Assurance de qualité des produits de la mer. *FAO Document technique sur les pêches*. No. 334. Rome, Italie. 186p.
130. Huss, H.H. (1995). Quality and quality changes in fresh fish (1st Ed.). In: Fisheries Technical Paper-348. Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, Rome, Italy. 202 p.
131. Huss, H.H. (1999). La qualité et son évolution dans le poisson frais. *FAO Document technique sur les pêches*. No. 348. Rome. FAO. 198p.
132. Hwang, K. T. & Regenstein, J. M. (1993). Characteristics of mackerel mince lipid hydrolysis. *Journal of Food Science*, 58: 79-83.
133. Ignat, I., Volf, I., & Popa, V.I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126: 1821–1835.

134. ISO. (1999). Dried oregano — Whole or ground leaves specification. *ISO NORM 7925:1999. International Standardization Organization ed.*, Geneva, Switzerland. 5p.
135. ISO. (2001). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms. *ISO NORM 17410:2001. International Standardization Organization ed.*, Geneva, Switzerland. 8p.
136. ISO. (2013). Microbiology of the Food Chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part 2: Colony count at 30°C by the surface plating technique. *ISO Norm 4833-2:2013. International Standardization Organization ed.*, Geneva, Switzerland. 12p.
137. ISO. (2017). Microbiology of the Food Chain - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products. *ISO NORM 6887-3: 2017. International Standardization Organization ed.*, Geneva, Switzerland. 16p.
138. Jeyasekaran, G., Ganesan, P., Anandaraj, R., Jeya Shakila, R., & Sukumar, D. (2006). Quantitative and qualitative studies on the bacteriological quality of Indian white shrimp (*Penaeus indicus*) stored in dry ice. *Food Microbiology*, 23(6): 526-533. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2005.09.009>.
139. Jinadasa, B.K. (2014) Determination of quality of marine fishes based on total volatile base nitrogen test (TVB-N). *Nature and Science*, 12(5): 106-111.
140. Joffraud, J.J., Leroi, F, Roy, C. & Berdague, J.L. (2001). Characterisation of volatile compounds produced by bacteria isolated from the spoilage flora of cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology*, 66: 175-184.
141. Johnson, D., & Decker, E. (2015). The role of oxygen in lipid oxidation reactions: A review. *Annual Review of Food Science and Technology*, 6(1): 171-190. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-food-022814-015532>.
142. JORADP. (2006). *Arrêté du 15 Dhou El Hidja 1426 correspondant au 15 janvier 2006 rendant obligatoire la méthode de mesurage du PH de la viande et des produits de la viande*. Journal Officiel de la République Algérienne n° 23, pp : 18-20.
143. Jorgensen, B.R. & Huss, H.H. (1989). Growth and activity of *Shewanella putrefaciens* isolated from spoiling fish. *International Journal of Food Microbiology*, 9: 51–62.

144. Josephson, D. B., Lindsay, R. C. & Stuibler, D. A. (1984). Variations in the occurrences of enzymically derived volatile aroma compounds in salt and freshwater fish. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32: 1344-1347.
145. Josephson, D.B. & Lindsay, R.C. (1986). *Enzymic Generation of Volatile Aroma Compounds from Fresh Fish*. In: Parliment and Croteau: Biogeneration of Aromas, American Chemical Society: Washington DC, pp: 201-219.
146. Junsi, M., Usawakesmanee, W., & Siripongvutikorn, S. (2012). Effect of using starch on off-odors retention in tuna dark meat. *International Food Research Journal*, 19(2): 709-714.
147. Jurgen, R., Paul, S., Ulrike, S. & Reinhard, S. (2009). Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties – an Overview: *Forsch Komplementmed*, 16: 79-90.
148. Kanazawa, A., Sawa, T., Akaik, T. & Maeda, H. (2000). Formation of basic sites in DNA by t-butyl peroxy radicals: implication for potent genotoxicity of lipid peroxy radicals. *Cancer Letters*, 156: 51-55.
149. Kang, S., Kang, G., Seong, P., Park, B., & Cho, S. (2014). Effect of packaging method on the lipid oxidation, protein oxidation, and color in aged top round from Hanwoo (Korean Native Cattle) during refrigerated storage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 34(3): 273-279. <http://dx.doi.org/10.5851/kosfa.2014.34.3.273>.
150. Karakaya, S. (2004). Bioavailability of phenolic compounds. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 44(6): 453-64.
151. Karakoltsidis, P. A., Zotos, A., Constantinides, S. M. (1995). Composition of the commercially important Mediterranean finfish, crustaceans and molluscs. *Journal of Food Composition and Analysis*, 8(3): 258-273.
152. Kenar, M., Ozogul, F., & Kuley, E. (2010). Effects of rosemary and sage tea extracts on the sensory, chemical and microbiological changes of vacuum-packed and refrigerated sardine (*Sardina pilchardus*) fillets. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(11): 2366-2372. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02414.x>.

153. Kennedy, J., Oblinger, J. & West, R. (1980). Fate of *Salmonella infantis*, *Staphylococcus aureus* and *Hafnia alvei* in vacuum packaged beef plate pieces during refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 45(5): 1273-1300.
154. Khoddami, A., Wilkes, M., & Roberts, T. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds, *Molecules*, 18(2): 2328-2375. DOI:10.3390/molecules18022328
155. Kim, D. O., Chun, O.K., Kim,, Y. J., Moon, H.Y., & Lee, C. Y. (2003). Quantification of Polyphenolics and Their Antioxidant Capacity in Fresh Plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 6509–6515. <http://dx.doi.org/10.1021/jf0343074>.
156. Kim, D. O., Lee, C. Y. (2004). Comprehensive study on vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of various polyphenolics in scavenging a free radical and its structural relationship. *Critical Review in Food Sciences and Nutrition*, (44):253–273.
157. Kim, Y. H. B., Warner, R. D. & Rosenvold, K. (2014). Influence of high pre-rigor temperature and fast pH fall on muscle proteins and meat quality: A review. *Animal Production Science*, 54(4): 375-395.
158. King, A. & Young, G. (1999). Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of the American dietetic association*, 99: 213-218.
159. Kodo, J. L. (1990). L'ionisation des produits de la pêche. Collection : Valorisation des produits de la mer. *Ifremer*, France. 171p.
160. Koffi, E., Sea, T., Dodehe, Y. & SORO, S. (2010). Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 5(3): 550- 558.
161. Kolakowska, A. (2002). Lipid oxidation in food systems. In Sikorski, Z.E. and Kolakowska A. (Eds.). *Chemical and Functional Properties of Food Lipids*, (pp. 133-165), London, UK: CRC Press. <http://dx.doi.org/10.1201/9781420031997.ch8>.
162. Koral, S., & Köse, S. (2012). The effect of filleting and ice application on the quality and safety of Atlantic bonito (*Sarda sarda*) at refrigerated storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(1): 210-220. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02828.x>.

163. Kostaki, M., Gitrakou, V., Savvaidis, I., & Kontominas, M. (2009). Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. *Food Microbiology*, 26(5): 475-482. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2009.02.008>.
164. Kristinsson, H.G., Lanier, T.C., Halldorsdottir, S.M., Geirsdottir, M. and Park, J.W. (2014) *Fish protein isolate by pH shift*. In: Park, J.W., editor. *Surimi and Surimi Seafood*. CRC Press, Taylor and Francis, Boca Raton. pp. 169-192.
165. Křížek, M., Vácha, F., Vorlová, L., Lukášová, J., & Cupáková, Š. (2004). Biogenic amines in vacuum-packed and non-vacuum-packed flesh of carp (*Cyprinus carpio*) stored at different temperatures. *Food Chemistry*, 88(2): 185-191. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.12.040>.
166. Kuley, E., Ozogul, F., Durmus, M., Gokdogan, S., Kacar, C., Ozogul, Y., & Ucar, Y. (2012). The impact of applying natural clinoptilolite (zeolite) on the chemical, sensory and microbiological changes of vacuum packed sardine fillets. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(9): 1977-1985. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03060.x>.
167. Kumar, S., Singh, N., Shweta & Archana. (2012). Green tea polyphenols: versatile cosmetic ingredient. *International Journal of Advanced Research in Pharmaceutical and Bio Sciences*, 2(3): 348-362.
168. Lafka, T. L., Sinanoglou, V. & Lazos, E. S. (2007). On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chemistry*, 104(3): 1206-1214.
169. Lapornik, B., prosek, M., etWondra A.G., (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of food engineering*. 71: 217-219.
170. Lecerf, J. M., (2007). Produits de la pêche et acides gras oméga 3. Intérêt en prévention cardio-vasculaire. *Phytothérapie*, 5(1): 14-21. <http://dx.doi.org/10.1007/s10298-007-0229-3>
171. Leduc, F., Tournayre, P., Kondjoyan, N., Mercier, F., Malle, P., Kol, O., & Duflos, G. (2011). Evolution of volatile odorous compounds during the storage of European

- seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Food Chemistry*, 131(4): 1304–1311. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.123>
172. Leong, L.P., & Shui, G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*, 76: 69-75.
173. Li, Q., Li, D., Qin, N., Hong, H., & Luo, Y. (2016). Comparative studies of quality changes in white and dark muscles from common carp (*Cyprinus carpio*) during refrigerated (4 °C) storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(5): 1130-1139. <http://dx.doi.org/10.1111/ijfs.13090>.
174. Li, Q., Zhang, L., Lu, H., Song, S. and Luo, Y. (2017) Comparison of postmortem changes in ATP-related compounds, protein degradation and endogenous enzyme activity of white muscle and dark muscle from common carp (*Cyprinus carpio*) stored at 4°C. *LWT Food Science and Technology*, 78(1): 317-324.
175. Listrat, A., Lebret, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L., & Bugeon, J. (2015). Comment la structure et la composition du muscle déterminent la qualité des viandes ou chairs?. *INRA Productions Animales*, Paris, 28 (2): 125-136.
176. Liu, S., Li, X., Zhou, X., Zhang, X., & Ding, Y. (2014). Comparative study of basic characteristics of ordinary and dark muscle in skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). *Food Science and Biotechnology*, 23(5): 1397-1404. <http://dx.doi.org/10.1007/s10068-014-0191-4>.
177. Lo Scalzo, R., Iannocari, T., Summa, C., Morelli, R. & Rapisarda P. (2004). Effect of thermal treatments on antioxidant and antiradical activity of blood orange juice. *Food Chemistry*, 85: 41-47.
178. López-Caballero, M., Góamez-Guillén, M., Pérez-Mateos, M., & Montero, E. (2005). A functional chitosan-enriched fish sausage treated by high pressure. *Journal of Food Science*, 70(3): M166-M171. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07145.x>.
179. Lorient, D. (1998). *Modifications biochimiques des constituants alimentaires*. In: *Procédés biochimiques et chimiques en agroalimentaire*. Ed., Techniques de l'ingénieur, Paris, pp. 9- 32.
180. Love, R. M. (1958). Studies on the North Sea: Muscle cell dimensions. *Journal of Food Science and Agriculture*, 9: 195-198.
181. Love, R. M. (1970). *The chemical biology of fishes*. Academic Press, London. pp. 17-35.

182. Love, R. M. (1973). Gaping of fillets. Torry Advis. Note n°. 61, *Torry Research Station, Aberdeen*.
183. Love, R. M. (1975). Variability in Atlantic Cod (*Gadus morhua*) from the Northeast Atlantic: a Review of Seasonal and Environmental Influences on Various Attributes of the Flesh. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 32: 2333-2342.
184. Love, R. M. (1980). *The chemical biology of fishes*. Vol 2. Academic Press London, UK, pp. 1968-1977.
185. Lutge, U., Kluge, M. & Bauer, G. (2002). Botanique. Technique et documentation, 3e Ed. Lavoisier .Paris. 211p.
186. Macheix, J. J., Fleuriet, A. & Sarni-Manchado, P. (2003). *Composés phénoliques dans la plante - Structure, biosynthèse, répartition et rôles*. In : Les polyphénols en agro-alimentaire; Sarni-Manchado, P. et Cheynier, V., Eds., Lavoisier, Paris, pp. 1-28.
187. Maja, D., Verica, D. U., Marija, P., Mladen, B., Tomislav, B. & Branka, L. (2013). The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols in Dalmatian wild sage (*Salvia officinalis* L.) extracts. *Food Technology and Biotechnology*, 51(1): 84-91.
188. Majhenic, L., Kerget, M.S., & Knez, Z. (2007). Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, 104: 1258–1268.
189. Majkowski, J. (2005). *Tuna and tuna-like species*. (pp. 163-174). In: Review of the state of world marine fishery resources, FAO Fisheries Technical Paper 457, Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, Rome, 235 p.
190. Malik, N. S. A. & Bradford, J. M. (2006). Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in “Arbequina” olives. *Scientia Horticulturae* , 110: 274-278.
191. Martin, K. A. M., Sreenath, P. G., Sil, S., Ravishankar, C. N., Bindu, J., Gopal, T. K. S., & Vijayan, P. K. (2007). Effect of filling medium on heat penetration characteristics and texture of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) in indigenous polymer coated easy open end tin free steel cans. *Fishery Technology*, 44(2): 159-166.
192. Martin, S. & Andriantsitohaina, R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annale de Cardiologie et d'Angéiologie*, 51: 304-315.

193. Mazorra-Manzano, M., Pacheco-Aguilar, R., Diaz-Rojas, E., & Lugo-Sanchez, M. (2000). Post mortem changes in black skipjack muscle during storage in ice. *Journal of Food Science*, 65(5): 774-779. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb13585.x>.
194. Mbarki, R., Sadok, S., & Barkallah, I. (2008). Influence of Gamma irradiation on microbiological, biochemical, and textural properties of Bonito (*Sarda sarda*) during chilled storage. *Food Science and Technology International*, 14(4): 367-373. <http://dx.doi.org/10.1177/1082013208097444>.
195. Medale, F. (2005). Caractéristiques nutritionnelles des poissons et facteurs de variations. *Aquaculture*, 79: 87-93.
196. Medale, F. (2009). Teneur en lipides et composition en acides gras de la chair de poissons issus de la pêche et de l'élevage. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44(4): 173-181. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cnd.2009.04.002>
197. Melton, S. L. (1983), Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. *Food Technology*, 37: 105-111.
198. Messina, C.M., Bono, G., Renda, G., La Barbera, L. & Santulli, A. (2015) Effect of natural antioxidants and modified atmosphere packaging in preventing lipid oxidation and increasing the shelf-life of common dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) fillets. *LWT Food Science and Technology*, 62(1): 271-277.
199. Mexis, S., Chouliara, E., & Kontominas, M. (2009). Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4 °C. *Food Microbiology*, 26(6): 598-605. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2009.04.002>.
200. Modigh, M., & Tota, B. (1975). Mitochondrial respiration in the ventricular myocardium and in the white and deep red myotomal muscles of juvenile tuna fish (*Thunnus thynnus* L.). *Acta Physiologica Scandinavica*, 93(3): 289-294. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-1716.1975.tb05818.x>.
201. Morita, R. Y. (1975). Psychrophilic bacteria. *Bacteriological Reviews*, 39: 144-167.
202. Muramoto, M., Yamamoto, Y. & Seki, N. (1989). Comparison of calpain of various fish myosins in relation to their thermal stabilities. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 55: 917-923.

203. Murray, C. K. & Fletcher, T. C. (1976). The immunohistochemical location of lysozyme in plaice (*Pleuronectes platessa* L.) tissues. *Journal of Fish Biology*, 9: 329-334.
204. Naczk, M. & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, (1054): 95-111
205. Nayak, N. and Pathak, V. (2017) Effect of plum puree on quality characteristics and sensory attributes of functional chevon patties. *Journal of Animal Research*, 7(1): 59-68.
206. Nelson, R. R. (1997). *In-vitro* activities of five plant essential oils against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 40(2): 305-306.
207. Nihal, T., Sedat, V. Y., Ferda S. & Gokce, P. (2007). Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12(3): 484-496.
208. Nik, E. (1987). Antioxydants in relation to lipid peroxidation. *Chemistry and Physics of Lipids*, 44: 227-253.
209. Oehlenschläger, J., & Rehbein, H. (2009). *Basic facts and figures*. In: Oehlenschläger, J. and Rehbein, H. (Eds.). *Fishery products: Quality, safety and authenticity*. Wiley Blackwell, United Kingdom. pp. 1-18.
210. Oksuz, A. (2008). Comparison of some biochemical parameters in dark and light muscle of Bonito (*Sarda sarda*). *Journal of Fisheries Sciences.com*, 2(3): <http://dx.doi.org/10.3153/jfscom.2008028>.
211. Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L. & Lacroix, M. (2006). Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 69: 1046-1055.
212. Ozkaya, M.T, & Celik, M. (1999). Quantitative analysis of phenolic compounds in olive cuttings. *Acta Horticulturae*, 474: 477-480.
213. Ozogul Y., Boga K.E., Tokur B. & Ozogul F., 2011. Changes in biochemical, sensory and microbiological quality indices of common sole (*Solea solea*) from the Mediterranean sea, during ice storage. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11: 243–251.

214. Ozogul, F., Polat, A., & Özogul, Y. (2004). The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry*, 85(1): 49-57. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.05.006>.
215. Ozyurt, G., Kuley, E., Balikçi, E., Kaçar, Ç., Gökdogan, S., Etyemez, M., & Özogul, F. (2011). Effect of the icing with rosemary extract on the oxidative stability and biogenic amine formation in sardine (*Sardinella aurita*) during chilled storage. *Food and Bioprocess Technology*, 5(7): 2777-2786. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-011-0586-7>.
216. Pal, J., Shukla, B.N., Maurya, A.K., Verma, H.O., Pandey, G. and Amitha. (2018) A review on role of fish in human nutrition with special emphasis to essential fatty acid. *International Journal of Fishery and Aquatic Studies*, 6(2): 427-430.
217. Pantazi, D., Papavergou, A., Pournis, N., Kontominas, M., & Savvaidis, I. (2008). Shelf-life of chilled fresh Mediterranean swordfish (*Xiphias gladius*) stored under various packaging conditions. *Food Microbiology*, 25(1): 136-143. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2007.06.006>.
218. Pauli, A. (2001). Antimicrobial properties of essential oil constituents. *International Journal of Aromatherapy*, 11: 126-133.
219. Pelli, K. & Lyly, M. (2003). Les *antioxydants dans l'alimentation*, Consommateur n° 3. VTT Biotechnology, Finland. 28 p.
220. Pereira, M. A. C., & Jorge, N. (2012). Antioxidant potential of oregano extract (*Origanum vulgare* L.). *British Food Journal*, 114(7): 954–965. <http://dx.doi.org/10.1108/00070701211241554>.
221. Perez-Alonso, F., Aubourg, S., Rodriguez, O. & Barros -Velazques, J. (2004). Shelf life extension of Atlantic pomfret (*Brama brama*) fillets by packaging under vacuum-skin system. *European Food Research and Technology*, 218(4): 313-317. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-003-0831-z>.
222. Pezeshk, S., Rezaei, M., & Hosseini, H. (2011). Effects of turmeric, shallot extracts, and their combination on quality characteristics of vacuum-packaged rainbow trout stored at  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ . *Journal of Food Science*, 76(6): 387-391. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02242.x>.

223. Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R. & Defraigne, J. O. (1998). Mesure et utilisation des antioxydants. *Journal of Medicine Sphère*, 73 : 233-239.
224. Pokorny, J. (1977). Interactions of oxidized lipids with protein. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 4: 389-393.
225. Pokorny, J., Yanishlieva, N. & Gordon, H. (2001). *Antioxydants in food: Practical applications*. Woodhead Publishing limited. CRC Press. Cambridge Angleterre, 288p.
226. Puppo, A. (1992). Effect of Flavonoids on Hydroxyl Radical Formation by Fenton-Type reactions; Influence of the Iron Chelator. *Phytochemistry*, 31: 85-88.
227. Putro, S. (1989). Dry ice—possible uses in fresh and live fish handling. *Infofish International*, 4, 24–25.
228. Quan, P. T., Hang, T. V., Ha, N. H., De, N. X. & Tuyen, T. N. (2006). Microwave-assisted extraction of polyphenols from fresh tea shoot. *Science & Technology Development*, 9(8): 69-75.
229. Rajbhar, K., Dawda, H. & Mukundan, U. (2015). Polyphenols: Methods of extraction. *Scientific Reviews and Chemical Communications*, 5(1): 1-6.
230. Reddi, P. K., Constantanides, M. M. & Dymaza, H. A. (1972). Catheptic activity of fish muscle. *Journal of Food Science*, 37: 643-648.
231. Refsgaard, H. H. F., Brockhoff, P. M. B. & Jensen, B. (2000). Free polyunsaturated fatty acids cause taste deterioration of Salmon during frozen storage. *Journal of Agricultural and Chemistry*, 48: 3280-3285.
232. Regost, C., Arzel, J., Cardinal, M., Robin, J., Laroche, M., Kaushik, S. J. (2001). Dietary level, hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 193: 291-309.
233. Renoe, B.W. (1994). Microwave assisted extraction. *American Laboratory*, 26: 34–40.
234. Rhee, K.S. (1988). Enzymic and nonenzymic catalysis of lipid oxidation in muscle foods. *Food Technology*, 42(6): 127-132.
235. Ribereau-Gayon. (1968). Notions générales sur les composés phénoliques. *In : Les composés phénoliques des végétaux*. Ed Dunod: p17.
236. Richards, M., Kelleher, S., & Hultin, H. (1998). Effect of washing with or without antioxidants on quality retention of mackerel fillets during refrigerated and frozen stor-

- age. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10): 4363-4371.  
<http://dx.doi.org/10.1021/jf980311h>.
237. Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P. & Glover, W., (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66: 401-436.
238. Robards, M.D., Anthony, J.A., Rose, G.A. and Piatt, J.F. (1999). Changes in proximate composition and somatic energy content for Pacific sand lance (*Ammodytes hexapterus*) from Kachemak Bay, Alaska relative to maturity and season. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 242: 245-258.
239. Roby. M. H. H., Sarhana. M. A., Selima. K.A., Khalel. K.I. (2013). Evaluation of Antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*, (43): 827–831.
240. Rodríguez, Ó., Barros-Velázquez, J., Piñeiro, C., Gallardo, J., & Aubourg, S. (2006). Effects of storage in slurry ice on the microbial, chemical and sensory quality and on the shelf life of farmed turbot (*Psetta maxima*). *Food Chemistry*, 95(2): 270-278.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.11.054>.
241. Rome, L.C. Funke, R.P. Alexander, R.M. Lutz, G. Aldridge, H. Scott, F., & Freadman, M. (1988). Why animals have different muscle fiber types. *Nature*, 335: 824-827.
242. Rora, A. M. B, Morkore, T., & Einen, R. (2001). *Primary processing (evisceration and filleting)* In: Kestin SC, Warriss PD, editors. *Farmed fish quality*, Oxford, England: Fishing News Book. Blackwell Science Ltd.: pp. 249–260.
243. Rose, D. P., & Connolly, J. M. (1999). Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents; *Pharmacology & therapeutics*, 83(3): 217-244.
244. Rosnes, J.T., Vorre, A., Folkvord, L., Hovda, M., Fjaera, S. O. & Skjervold P.O. (2003). Effects of pre-, in-, and post-rigor filleted Atlantic salmon (*Salmo salar*) on microbial spoilage and quality characteristics during chilled storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 12(2): 17-31.
245. Rosset, R. & Lameloise, P. (1989). Conditionnement sous vide: viande, poisson, plats cuisinés. Recueil CDIUPA n°41.

246. Roy, M., Siddiqi, M. & Bhattacharya, R. (2001). Cancer chemoprevention: Tea polyphenol induced cellular and molecular responses. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2: 109-116.
247. Ruiz-Capillas, C., & Moral, A. (2005). Sensory and biochemical aspects of quality of whole bigeye tuna (*Thunnus obesus*) during bulk storage in controlled atmospheres. *Food Chemistry*, 89(3): 347-354. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.041>.
248. Sáez, M., Martínez, T., Cárdenas, S., & Suárez, M. (2015). Effects of different preservation strategies on microbiological counts, lipid oxidation and color of cultured meagre (*Argyrosomus regius*, l.) fillets. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6): 768-775. <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.12286>.
249. Sainclivier, M. (1983). L'industrie alimentaire halieutique: le poisson matière première. Premier volume. *Bulletin scientifique et technique de l'école nationale supérieure agronomique et du centre de recherches de Rennes*, 263p.
250. Samelis, J., Kakouri, A., & Rementzis, J. (2000). Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4°C. *Food Microbiology*, 17(3): 329-340. <http://dx.doi.org/10.1006/fmic.1999.0316>.
251. Sánchez-Zapata, E., Pérez-Alvarez, J., Fernández-López, J., & Barber-Valles, J. (2010). Descriptive study of reflectance spectra of hake (*Merluccius australis*), salmon (*Salmo salar*) and light and dark muscle from tuna (*Thunnus thynnus*). *Journal of Food Quality*, 33(3): 391-403. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4557.2010.00318.x>.
252. Sargent, J., Henderson, R.J. and Tocher, D.R., (1989). *The lipids*. In: Halver, L.E. (Ed.). *Fish Nutrition*., Academic Press, Inc., 153-218.
253. Sato, K. C., Ohashi, K. & Kawabata, M. (1991). Type V collagen in trout (*Salmo gairdneri*) muscle and its solubility change during chilled storage of muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(7): 1222-1225.
254. Schulz, M., Liese, A.D., Mayer-Davis, E.J., D'Agostino, R.B. Fang, F., Sparks, K.C., & Wolever T.M. (2005). Nutritional correlates of dietary glycaemic index: New aspects from a population perspective. *British Journal of Nutrition*, 94: 397-406.

255. Selmi, S., & Sadok, S. (2008). The effect of natural antioxidant (Thymus vulgaris Linnaeus) on flesh quality of tuna (*Thunnus thynnus*, Linnaeus) during chilled storage. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3(1): 36–45.
256. Sengul, M., Yildiz, H., Gungor, N., Cetin, B., Eser, Z. & Ercisli, S. (2009). Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22: 102-106.
257. Sevanian, A. & Hoschstein, L. (1985). Mechanisms and consequences of lipid peroxidation in biological system. *Annual Review of Nutrition*, 5: 365-390.
258. Sheridan, M.A. (1988) Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilisation. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 90: 679-690.
259. Shewan, J. M. (1961). *The microbiology of sea water fish*, In: "Fish as food", BORGSTROM Ed. Acad. Press, New-York, vol 1, pp. 487-560.
260. Shewan, J. M. (1977). The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes induced by bacterial action. In: Sutcliffe, P. and Disney, J. (Eds.). Handling processing and marketing of tropical fish. Tropical products Institute, London. pp. 51-66.
261. Shewfelt, R. L. (1981). Fish muscle lipolysis - A review. *Journal of Food Biochemistry*, 5(2): 79-100.<http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4514.1981.tb00663.x>.
262. Shimizu, Y., Toyohara, H., & Lanier T.C. (1992). *Surimi production from fatty and dark-fleshed species*. In: Lanier T. C., Lee C. M., Eds. *Surimi Technology*. New York: Marcel Dekker Inc., 181-207.
263. Shirai, N., Terayama, M., Takeda, H. (2002). Effect of season on the fatty acid composition and free amino acid content of the sardine *Sardinops melanostictus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B. Biochemistry and Molecular Biology*, 131: 387-393.
264. Sikorski, Z. E. (1980). *Structure and protein of fish and shellfish*. Part. 2, In: *Advances in fish science and technology*, Connell. J. J., Ed. Fishing News Book Ltd., Farnham, Surrey, England, pp. 78-85.

265. Silva, E.M., Rogez, H. & Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction of phenolics-From *ingaedulis* leaves using response surface methodology. *Séparation and purification Technology*, (55):381-387.
266. Singleton, V., Orthofer, R. & Lamuela-Raventós, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In: Packer, L. (Ed.). *Oxidants and antioxidants, part A, methods in enzymology*. Academic Press. New York. pp. 152-178.
267. Sipailiene, A., Venskutonis, P.R., Baranauskiene, R. & Sarkinas, A. (2006). Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. *Journal of Essential Oil Research*, 18: 698-703. <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2006.9699210>
268. Smallfield, B. (2001). Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research*, (45): 1-4.
269. Sohn, J., & Ohshima, T. (2010). Control of lipid oxidation and meat color deterioration in skipjack tuna muscle during ice storage. *Fisheries Science*, 76(4): 703-710. <http://dx.doi.org/10.1007/s12562-010-0248-0>.
270. Sohn, J., Taki, Y., Ushio, H., Kohata, T., Shioya, I., & Ohshima, T. (2005). Lipid oxidations in ordinary and dark muscles of fish: Influences on rancid off-odor development and color darkening of yellowtail flesh during ice storage. *Journal of Food Science*, 70(7): s490-s496. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb11497.x>.
271. Song, Y., Liu, L., Shen, H., You, J., & Luo, Y. (2011). Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). *Food Control*, 22(3-4): 608-615. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.10.012>.
272. Soudan, F., Anquez, H. & Babezit, A. (1965). La conservation par le froid des poissons, crustacés et mollusques. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 646-653.
273. Stanković, S. M. (2011). Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. Extracts. *Kragujevac Journal of Science*, 33: 63-72.
274. Surette, M. E., Gill, T. A. & LeBlanc, P. J. J. (1988) Biochemical basis of postmortem nucleotide catabolism in cod (*Gadus morhua*) and its relationship to spoilage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36: 19-22.

275. Tahiri, I. (2007). Isolement, caractérisation et étude du potentiel de la divergicine M35, pour la bio-conservation des produits marins prêts à consommer. Thèse de Doctorat. Université Laval. pp. 8.
276. Tanner, D.K., Brazner, J.C. & Brady, V.J. (2000). Factors influencing carbon, nitrogen and phosphorus content of fish from a Lake Superior coastal wetland. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47: 1243-1251.
277. Tapiero, H., Tew, K. D., Nguyen, B. G. & Mathé, G. (2002). Polyphenol do they play a role in the prevention of the human pathologies?. *Biomedical Pharmacotherapy*, 56: 200-207.
278. Tarladgis, B., Watts, B. M., & Younathan, M. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of the American Oil and Chemists' Society*, 37(1): 44-48. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02630824>.
279. Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M. & Elimat T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*, (104): 1372-1378.
280. Thiansilakul, Y., Benjakul, S., & Richards, M. (2011). The effect of different atmospheric conditions on the changes in myoglobin and colour of refrigerated Eastern little tuna (*Euthynnus affinis*) muscle. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(6): 1103-1110. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.4290>.
281. Tiwari, B. K., Valdramidis, V. P. & O'Donnel, C. P. (2009). Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57: 5987–6000.
282. Toyohara, H., Makinodan, Y., Tanaka, K. & Ikeda, S. (1985). Purification and properties of carp (*Cyprinus carpio*) muscle calpain II (high-Ca<sup>2+</sup>-requiring form of calpain). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 81(3): 573-578.
283. Uccella, N. (2001). Olive biophenols: biomolecular characterization, distribution and phytoalexin histochemical localization in the drupes. *Trends Food Science and Technology*, 11: 315-327.
284. Undeland, I., Ekstrand, B., & Lingnert, H. (1998). Lipid oxidation in herring (*Clupea harengus*) light muscle, dark muscle, and skin, stored separately or as intact fillets.

- Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(5): 581-590.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s11746-998-0069-9>.
285. Vagi. R., Hadolin. M., Vasarhelyine. P., Balazs. A., Blazovics. A. & Simandi. B. (2005). Phenolic and triterpenoid antioxydantes from *Origanum majorana* L. herb and extracts obtained with different solvants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53(1): 17-21.
286. Valin, C. & Lacourt, A. (1980). Etude comparée de différents modes de conditionnement des viandes bovines hachées et réfrigérées. *Industries Alimentaires et Agricoles*, 3: 123-129.
287. Valne, T. J., (1980). *Aromathérapie : traitement des maladies par les essences des plantes*. 9e Ed. Maloine. 510 p.
288. Van Der Bosch H., (1980). Intracellular phospholipases A. *Biochimica et Biophysica Acta*, 604: 191-246.
289. Van Spreekens, K. J. A. (1977). Characterization of some fish and shrimp spoiling bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 43: 282–303.
290. Viji, P., Tanuja, S., Ninan, G., Lalitha, K.V., Zynudheen, A.A., Binsi, P.K. and Srinivasagopal, T.K. (2015) Biochemical, textural, microbiological and sensory attributes of gutted and ungutted sutchi catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) stored in ice. *Journal of Food Science and Technology*, 52(6): 3312-3321.
291. Waterhouse, A. L. (2002). *Determination of total phenolics*. In: WrolstadRE, editor. *Current protocols in food analytical chemistry*. New York, NY, USA: John Wiley and Sons Inc. pp. 111–118.
292. Whittle, K., Hardy, R. & Hobbs, G. (1990). *Chilled fish and fishery products*. In: T. Gormley (Ed.), *Chilled foods: The state of the art* (pp. 87-116). Elsevier Applied Science, New York (USA).
293. Widiastuti, I., Putro, S., Fardiaz, D., Trilaksani, W. & Inaoka, T. (2013). Changes in freshness of steak and loin tuna (*Thunnus albacares*) during 15 day-chilled storage. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 8(2): 367-377.
294. Wissam, Z., Ghada, B., Wassim A. & Warid, K. (2012). Effective Extraction of Polyphenols and Proanthocyanidins from Pomegranate's Peel. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(3): 675-682.

295. Woyewoda, A.D., Shaw, S.J., Ke, P.J. & Burns, B.G. (1986) Recommended laboratory methods for assessment of fish quality. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1448(1): 2-5.
296. Yeannes, M., & Almandos, M. (2003). Estimation of fish proximate composition starting from water content. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16(1): 81-92. [http://dx.doi.org/10.1016/s0889-1575\(02\)00168-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0889-1575(02)00168-0).
297. Yerlikaya, P., & Gokoglu, N. (2010). Effect of previous plant extract treatment on sensory and physical properties of frozen bonito (*Sarda sarda*) fillets. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10(3): 341-349. <http://dx.doi.org/10.4194/trjfas.2010.0306>.
298. Zaboukas, N., Miliou, H., Megalofonou, P., & Moraitou-Apostolopoulou, M. (2006). Biochemical composition of the Atlantic bonito *Sarda sarda* from the Aegean Sea (eastern Mediterranean Sea) in different stages of sexual maturity. *Journal of Fish Biology*, 69(2): 347-362. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8649.2006.01090.x>.
299. Zhao, Y., Yang, X., Li, L., Hao, S., Wei, Y., Cen, J., & Lin, H. (2016). Chemical, microbiological, color and textural changes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets sterilized by Ozonated water pretreatment during frozen storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(1): e12746. <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.12746>.

# Publication

## Veterinary World

Editorial Office: Veterinary World, Star, Gulshan Park, NH-8A, Chandrapur Road, Wankaner - 363621, Dist. Morbi, Gujarat, India

ISSN: 0972-8988, EISSN: 2231-0916, www.veterinaryworld.org

### Editor-in-Chief

Anjum V. Sherasiya - Ex-Veterinary Officer, Department of Animal Husbandry, Gujarat State, India

### Associate Editors

Shamprakash Choudhary - Department of Biomedical & Diagnostic Sciences, College of Veterinary Medicine, The University of Tennessee, 2407 River Drive, Room A201, Knoxville, TN 37996, U.S.A.  
Suresh H. Bessagoudanavar - FMD Vaccine Research Laboratory, IVRI, Bangalore, Bangalore-560024, Karnataka, India

### Editorial board

R. G. Jari - Ex-Coordinator Wildlife Health, Western Region Centre, Indo-US Project, Department of Veterinary Medicine, Veterinary College, Anand-388001, Gujarat, India  
G.N. Gongal - Technical Officer, WHO South-East Asia Regional Office, New Delhi-110002, India  
Ranganath Mammidi - Dr. Julian E Steiner Lab, Department of Physiology & Biophysics, Medical School, Case Western Reserve University, Cleveland, OH - 44106, U.S.A.  
Md. Tanvir Rahman - Department of Microbiology and Hygiene, Faculty of Veterinary Science, Bangladesh Agricultural University, Mymensingh-2202, Bangladesh  
Deepti A. Agarwal - Cancer Prevention Laboratory, Pennington Biomedical Research Center, Baton Rouge, LA, U.S.A.  
Fouad Kasim Mohammed - Professor, Department of Pharmacology & Toxicology, Vice President for Administrative & Financial Affairs, University of Mosul, P.O. Box 11136, Mosul, Iraq  
Abdel-Basset Nasr-Sayed Ahmed - Professor and Head, Department of Animal Nutrition and Clinical Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, Assiut University, Assiut, Egypt  
Nicole Borel - Department of Pathology, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, CH-8057 Zurich, Switzerland  
B. A. Lubisi - Virology, MED Programme, ARC - Onderstepoort Veterinary Institute, No. 100 Old Soutpan Road, Onderstepoort, Tloane, 0110, South Africa  
Kumar Venkatarayan - Associate Professor, Graduate Programs Chair, Honors and Pre-Vet Programs Advisor, Department of Animal Science, University of Connecticut, Storrs, CT 06269, U.S.A.  
Kerim Yu - Department of Veterinary Medicine, University of Maryland, College Park College Park, MD, 20742, U.S.A.  
Vassilis Papatziros - Faculty of Veterinary Medicine, Department of Medicine (Porcine Medicine), University of Thessaly, Thessaly, Greece  
Mathias Devreese - Laboratory of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Belgium  
Sumet Sharma - Edmonton North Animal Hospital, Edmonton, Alberta, T5X 3Y7, Canada  
V. P. Singh - School of Medicine and Dentistry, University of Rochester, Department of Environmental Medicine, Room: 4-6820, 501 Elmwood Avenue, Box-EN5C, Rochester, New York-14620, U.S.A.  
Raj Mohan Raja Muthiah - Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, U.S.A.  
Ashok K. Chockalingam - Division of Applied Regulatory Science, U.S. Food and Drug Administration, 10923, New Hampshire Avenue, Silver Spring, Maryland 20993, U.S.A.  
Anujash Wadwa - Porcine and Rabies Branch, Division of High-Consequence Pathogens and Pathology, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, 1600 Clifton Road, NE, Mail Stop G23, Atlanta, GA 30333, U.S.A.  
Luiz Otávio Ferreira Cavallotti - Laboratory of Immunomodulation and Protozoology, Oswaldo Cruz Institute, Ministry of Health (Brazil), PAVi/IBP 11081 - Sala: 09, Av. Brasil, 4365 - Mangueiras, Rio de Janeiro - RJ, CEP: 21040-360, Brazil.  
Makramoun Bidarrath - Corneal Stem Cell Program, Department of Biomedical Sciences, T2-012 Veterinary Research Tower, Cornell University, College of Veterinary Medicine, Ithaca, NY 14853-6401, USA.

Rating of Veterinary World: NAAS - National Academy of Agricultural Sciences - 5.71, Scimago Journal Rank - 0.284, Otscore - 0.57, SNIP - Source Normalized Impact per Paper - 0.570

### Indexing and abstracting

Academic Journal Database, AGORA, AGRICOLA, AGRIS, CABI, CAS, DOAJ, EBSCO, EMBASE, EIC, Thomson Reuters, Gale, Google Scholar, HINARI, Indian Animal Science Abstracts, Indian Science Abstracts, Journals@Seek, Open JGate, ProQuest, PubMed, PubMed Central, SCOPUS, TEAL.

### Publishers: Veterinary World

Veterinary World is an open access journal, each issue available free of cost at www.veterinaryworld.org. We accept online submission only. For more information regarding submission and publication charges, please visit www.veterinaryworld.org

Printed and Published by Dr. Anjum V. Sherasiya on behalf of Veterinary World. Printed and Published at Star, Gulshan Park, N.H. 8A, Chandrapur Road, Wankaner-363621, Dist. Morbi, Gujarat, India. Editor: Dr. Anjum V. Sherasiya

Volume - 12

No. 1

January-2019

ISSN: 0972-8988

EISSN: 2231-0916



NAAS Rating : 5.71

Indexed in ESCI-Thomson Reuters, PubMed, PubMed Central, DOAJ, Scopus, CABI, CAS etc.

## Veterinary World

Open access and peer reviewed journal



### Editorial office

Veterinary World,  
Star, Gulshan Park,  
NH-8A, Chandrapur Road,  
Wankaner - 363621,  
Dist. Morbi, Gujarat, India  
Website: www.veterinaryworld.org  
E-mail: editor@veterinaryworld@gmail.com

## Combined impacts of oregano extract and vacuum packaging on the quality changes of frigate tuna muscles stored at $3\pm 1^{\circ}\text{C}$

Talal Lahreche<sup>1,2</sup>, Yilmaz Uçar<sup>3</sup>, Ali Riza Kosker<sup>3</sup>, Taha-Mossadak Hamdi<sup>1</sup> and Fatih Ozogul<sup>3</sup>

1. Laboratory of Food Hygiene and Quality Insurance System, High National Veterinary School, Issad Abbes Avenue, Oued Smar, Algiers, Algeria; 2. Department of Biology, Faculty of Natural Sciences, Ziane Achour University, Djelfa, Algeria; 3. Department of Seafood Processing Technology, Faculty of Fisheries, Cukurova University, Adana, Turkey.

**Corresponding author:** Talal Lahreche, e-mail: [talal\\_lahreche@yahoo.fr](mailto:talal_lahreche@yahoo.fr)

**Co-authors:** YU: [yucar@cu.edu.tr](mailto:yucar@cu.edu.tr), ARK: [akosker@cu.edu.tr](mailto:akosker@cu.edu.tr), TMH: [moussahamdi@hotmail.com](mailto:moussahamdi@hotmail.com), FO: [fozogul@cu.edu.tr](mailto:fozogul@cu.edu.tr)

**Received:** 10-10-2018, **Accepted:** 12-12-2018, **Published online:** 28-01-2019

**doi:** 10.14202/vetworld.2019.155-164 **How to cite this article:** Lahreche T, Uçar Y, Kosker AR, Hamdi TM, Ozogul F (2019) Combined impacts of oregano extract and vacuum packaging on the quality changes of frigate tuna muscles stored at  $3\pm 1^{\circ}\text{C}$ . *Veterinary World*, 12(1): 155-164.

### Abstract

**Aim:** The combined effects of oregano extract with vacuum packing (VP) on the quality enhancement of dark and white muscles of frigate tuna (*Auxis thazard*) stored as intact fillet at refrigerated ( $3\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) conditions were studied.

**Materials and Methods:** About 35 kg of fish were filleted without skin removal and randomly divided into two groups. One group without treatment (control) and the remaining group were dipped in a sterilized oregano extract solution for 5 min. Chemical, microbiological, sensorial, and textural analyses were carried out in each of dark and white muscles of frigate tuna fillets during storage.

**Results:** Several quality indexes were higher in dark muscle than white muscle. The sensory assessment indicated that both muscles from control had a shelf life of 12 days. Quality parameters of both muscles had the same tendency and were significantly affected by time and also by the presence of plant extract in VP. Although VP alone was sufficient to delay lipid oxidation on fish fillets, especially on dark muscle but cannot enhance the textural deterioration in both muscles.

**Conclusion:** Consequently, the employment of such combination had a cumulative effect on preservation, resulting in prolonging the shelf life of both frigate tuna muscles.

**Keywords:** dipping, fish muscles, oregano extract, quality parameters, refrigerated storage, vacuum packaging.

### Introduction

Fish have a higher nutritional value since it is an excellent source of high-quality protein, vitamins, minerals, and polyunsaturated fatty acids, particularly omega-3 fatty acids [1]. *Auxis thazard*, commonly known as frigate tuna, is a small pelagic, tuna-like species, and widely distributed in worldwide. Its consumption is recently popular in many countries since it can be used as alternative raw materials for the productions of the famous tataki, surimi, and sashimi that are consumed as raw food [2]. Similar to all seafood, frigate tuna is highly perishable due to the simultaneous action of autolytic enzymes and microbial growth [3] that will be able to cause violent postmortem autolysis, thus limiting its shelf life, especially during a high feeding period when the fish contain various bacteria and enzymes in the intestinal system. Therefore, its required to develop effective methods to avoid deterioration and maintain the quality since fish are a susceptible food product and also the shelf life of fillets is shorter than for whole fish.

The shelf life of fish can be extended noticeably by modifying the environment of the product [4]. Rapid cooling or storage in crushed ice is common methods that are traditionally used to extend the shelf life of seafood products. However, in the presence of ordinary atmosphere where the growth of aerobic bacteria is stimulated, atmospheric oxygen causes undesirable intense lipid rancidity due to the high proportion of polyunsaturated fatty acids in fish flesh [5]. For this reason, lower temperatures are combined with vacuum packaging (VP) and become an increasingly widespread preservation method involving the modification of atmosphere inside the pack [4]. VP prolongs the shelf life of fish products by removing air from a low oxygen permeability pack thereby reducing the availability of  $\text{O}_2$  that is essential for the growth of aerobic bacteria, preventing lipid rancidity in fillets [6], ensuring correct assembly, and protection against external aggressions such as dehydration observed during the refrigeration. However, VP conditions have no important inhibiting effect on microbial growth leading to off-odors and slimy appearance of fish. Thus, its required to combine such techniques with the application of plant extract (antimicrobial) to guarantee the safety and high quality of vacuum packed products. Dipping in a natural preservative from oregano extract with vacuum packaging might provide an effective preserving system and lead to seafood with better sensory and microbiological quality than those of common packaged seafood products.

Copyright: Lahreche, et al. Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

The objectives of the current work were to establish the differences in quality parameters between dark and white muscles of the fillets and to investigate the potential combined effect of oregano extract and vacuum packaging on the shelf life of frigate tuna (*A. thazard*) muscles stored as intact fillet at refrigerated ( $3\pm 1^\circ\text{C}$ ) conditions by evaluating chemical, microbiological, sensorial, and textural parameters.

## Materials and Methods

### Ethical approval

Permission of the Animal Ethics Committee is not required to pursue such type of study.

### Plant extracts preparation

Plant materials (Oregano) were purchased from the local market and were botanically identified. Fresh aerial parts of oregano were dried in the dark at ambient temperature ( $<30^\circ\text{C}$ ). The plant materials were individually ground into a fine powder. Extraction was done in line with the method reported by Kenar *et al.* [7] with slight modifications. Ethanol from the filtrate was completely evaporated using a rotary evaporator. The extract was weighed and treated by ultraviolet-light (30 W, 50 cm irradiation distance) for 30 min. to reduce the naturally existing microflora. Then, the extract was re-dissolved in a small volume of absolute ethanol and stored in amber flasks in the dark at  $-18^\circ\text{C}$  till usage.

### Fish sample preparation

About 35 kg of frigate tuna (*A. thazard*) caught from the Mediterranean Sea in Turkey were purchased from the local fish market; they were delivered to the laboratory in  $<6$  h post-capture. On arrival at the laboratory, fish were promptly gutted, decapitated, and filleted without skin removal. After that, fillets were rinsed with tap water and were randomly divided into two groups. One group kept as control, and the remaining group was dipped in a 1 L of sterile purified water consisting of 5 g of sterilized oregano extract for 5 min. The applied concentration (0.5%) of oregano extract was not perceptible by the sensory panel.

### Packaging materials

Untreated (control) and treated groups were packaged (three fillets/package) in bags of polyamide film (Polinas, Manisa, Turkey) using a Reepack RV50 vacuum packaging machine (Seriante, Via dell'Artiglianato, Italy). The thickness of the bags was  $90\ \mu\text{m}$  while permeability of water and oxygen was  $8.5\ \text{g m}^{-2}\ 24\ \text{h}$  and  $160\ \text{cm}^3\ \text{m}^{-2}\ 24\ \text{h}$ , respectively.

### Storage and sampling

All fillets were kept at refrigerated ( $3\pm 1^\circ\text{C}$ ) conditions. Three packs (nine fillets) from each treatment group were analyzed at each sampling days. Chemical, sensory, microbiological, and texture measurements were done in triplicate from separated dark and white muscles of the same fillet on days 0, 4, 8, 12, 15, and 18.

### Sensory analysis

The quality index method (QIM) was employed for frigate tuna fillets with slight modifications for sensory assessment [8]. The QIM procedure contained five quality parameters including surface and skin appearance, odor, texture and color of fillet, and plant extract odor. The scheme generally has a score system of 4 demerit points for each of the parameters. QIM assigns a score of zero for a very fresh fillet while an increasingly greater score as the fillet deteriorates. The panel, consisting of six trained evaluators, inspected fillets and recorded the appropriate demerit point for each of parameters and then the scores of all parameters are summed to give an overall demerit score, so-called quality index score. The panel was asked to indicate whether or not frigate tuna were acceptable for the assessment of the shelf-life of fish fillets.

Sensory evaluations of cooked frigate tuna fillets were assessed in line with the same method of Ariyawansa *et al.* [8] without any modification. Frigate tuna fillets were microwaved in for 3 min. (500 W) and then evaluators were asked to evaluate it. Evaluators scored for odor and flavor, using a Torry score with eight-point hedonic scale (3, poorest quality to 10, best quality).

### Chemical analysis and pH

pH values were recorded using the method proposed by Woyewoda *et al.* [9]. The total volatile basic nitrogen (TVB-N) content was analyzed in line with the method of Antonacopoulos [10]. Free fatty acid analysis (FFA) was carried out in line with the American Oil Chemists' Society (AOCS) [11]. The thiobarbituric acid reactive substances value (TBARs) was determined in relation to the method of Tarladgis *et al.* [12] to measure the oxidation stability. Peroxide value (PV) was done by AOCS [11] method.

### Microbiological analysis

Preparation of test samples from frigate tuna muscle, initial suspension and serial decimal dilutions for microbiological analysis were prepared using sterile quarter-strength Ringer's solution (Fluka; Sigma-Aldrich, Sweden) [13]. Aliquots of 0.1 ml from each dilution were carefully spread over the surface of the dry plate count agar (Fluka 70152; Steinheim, Switzerland) [14,15]. The enumeration of aerobic mesophilic and psychrophilic bacteria was performed after incubation for 72 h at  $30^\circ\text{C}$  [14] and for 10 days at  $6.5^\circ\text{C}$  [15], respectively. All analysis was made in triplicate and was taken from each of dark and white muscles of each of two different groups.

### Texture profile analysis (TPA)

Measurements of textural changes were carried out in line with the modified procedure of Liu *et al.* [16]. TPA was measured by a TA.XT Texture Analyzer equipped with a load cell of 50 N and the software was Texture Expert, v1.20 (Stable Micro Systems, Godalming, Surrey, U.K). Dark and white muscles were sampled from the same frigate tuna

fillet with a length of 35 mm, a height of  $20\pm 2$  mm, and the thickness of 10 mm. All samples were dried with filter paper after treatment. A flat-ended cylinder (P/36R) used with a diameter of 35 mm was pressed into the fillet at a constant speed of 1 mm/s until it accomplished 50% of the fillet thickness. Afterward, the force was lessened, and the sample was permitted to recover 10 s with the cylinder just contacting the sample surface. Finally, the probe was forced second on fish muscles, and the values of the hardness, chewiness, adhesiveness, resilience, and springiness were taken for the dark and white muscle.

#### Statistical analysis

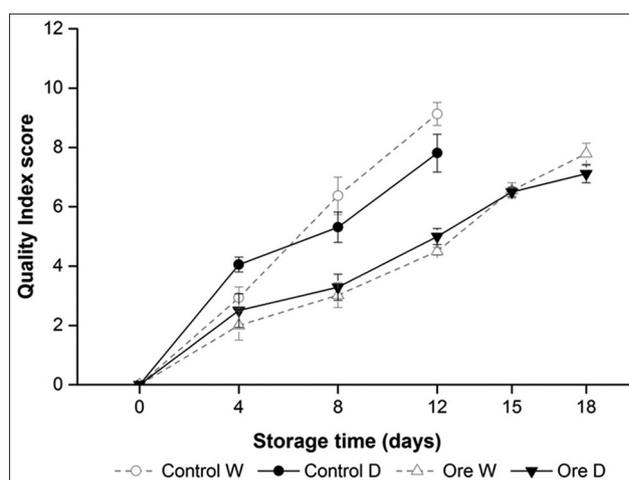
Average values and standard deviations were obtained from triplicate data for each of muscle type from each treatment. Data were assessed using analysis of variance. Duncan's multiple range tests were followed to determine the significant differences at  $p < 0.05$ . Statistical assessment was done by the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 19.0 for Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

### Results and Discussion

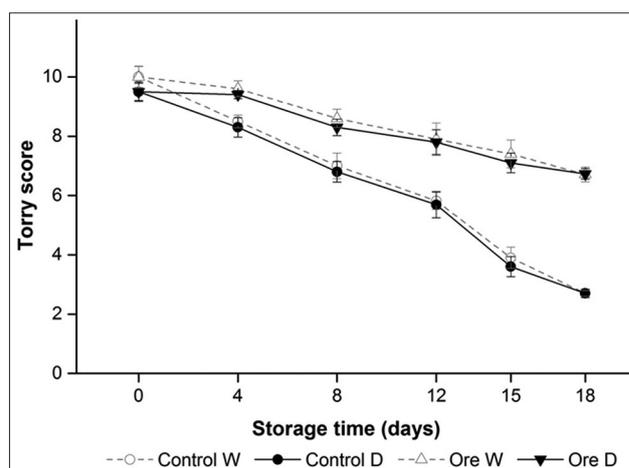
#### Sensory assessments

Sensory assessment of raw and cooked dark and white muscles from frigate tuna fillets stored under VP with and without oregano extract was evaluated throughout 18 days of refrigerated ( $3\pm 1^\circ\text{C}$ ) storage (Figure-1). No significant differences in sensory assessment ( $p > 0.05$ ) were observed between the two muscles type of each treatment. Quality parameters (i.e., brightness, texture, odor, and color) of both muscles in control were poorer than those of the treated group. Using a sensory score of 8 as the limit of acceptability, the shelf life was found to be no longer than 12 days for both dark and white muscles of control. The application of oregano extract extended the shelf life of white muscle by 6 additional days compared with untreated sample counterpart and maintained the acceptability of dark muscle until the end of the storage. Therefore, oregano extract extended the shelf life of both muscles of frigate tuna fillets and resulted in an improvement in sensory quality on dark muscle than on white muscle. The observed shelf life extensions of fish muscles may be resulted from the cumulative impacts of the combined treatments of filleting, VP and plant extract during the refrigerated storage.

Sensory scores of cooked frigate tuna fillets stored under VP with and without oregano treatment dropped during the 18 days of refrigerated ( $3\pm 1^\circ\text{C}$ ) storage (Figure-2). Throughout the experiment, no significant differences ( $p > 0.05$ ) were observed between both muscles for each treatment. However, significant differences ( $p < 0.05$ ) were observed between control and treated groups in each muscle type. Treated group was highly preferred by panelists due to their desirable flavor. The limit of acceptability was defined by panelists as a score of  $> 6$ . As spoilage progressed, the



**Figure-1:** Sensory assessment of raw dark (D) and white (W) muscle from frigate tuna fillet during the refrigerated storage under vacuum pack: Untreated (Control), Oregano extract (Ore). Mean scores of sensory assessment ( $n=6$ ). Standard deviations are indicated by bars.



**Figure-2:** Sensory score of cooked dark (D) and white (W) muscle from frigate tuna fillet during refrigerated storage under vacuum pack: Untreated (control), oregano extract (Ore). Mean scores of sensory assessment ( $n=6$ ). Standard deviations are indicated by bars. The limit of acceptability was defined by panelists as score of  $> 6$ .

sensory quality of dark and white muscle decreased until they were no longer edible at 12 days for control. However, the limit of acceptability was not reached until the 18<sup>th</sup> day of the storage in both dark and white muscles for treated sample. At the rejection points, general acceptability scores of cooked frigate tuna fillets were in agreement with their raw samples corresponding of each type of muscle. As a result, it can be concluded that combined treatment could be used to extend the shelf life of frigate tuna muscles.

#### pH and chemical analysis

pH values for all samples are given in Table-1. The initial pH value of dark muscle was significantly ( $p < 0.05$ ) higher than that of white muscle. This result was not consistent with those reported by Chaijan *et al.* [2] for the same studied species, suggesting that pH can vary not only between white and dark muscle but also in the same species, which might have been

**Table-1:** Effect of oregano extract with vacuum-packaging on pH, TVB-N, and PV in white (W) and dark (D) muscles of frigate tuna fillets stored at refrigerated ( $3\pm 1^\circ\text{C}$ ) conditions.

Storage time (days)	Parameters Samples	pH (n=3)		TVB-N (n=3) (mg per 100 g)		PV (n=3) (meq O <sub>2</sub> /kg)	
		Control	Oregano	Control	Oregano	Control	Oregano
0	W	5.69±0.01a,Y	5.69±0.01a,Y	12.82±0.41a,Y	12.82±0.41a,Y	2.61±0.23a,X	2.61±0.23a,X
	D	5.77±0.02a,X	5.77±0.02a,X	17.21±0.84a,X	17.21±0.84a,X	1.45±0.20a,Y	1.45±0.20a,Y
4	W	5.73±0.04a,Y	5.71±0.21a,Y	18.94±0.70a,Y	18.39±2.33a,X	3.83±0.04a,X	2.60±0.73b,X
	D	5.89±0.06a,X	5.85±0.09a,X	28.29±0.88a,X	22.37±3.54b,X	1.88±0.07a,Y	1.91±0.19a,X
8	W	5.85±0.04a,X	5.77±0.06b,Y	21.41±0.73a,Y	19.84±0.35b,X	6.33±1.15a,X	2.00±0.33b,X
	D	5.89±0.03a,X	5.81±0.01b,X	22.96±0.63a,X	19.80±0.56b,X	0.99±0.02a,Y	1.03±0.00a,Y
12	W	5.87±0.02a,Y	5.86±0.07a,X	19.59±0.04a,X	15.21±0.77b,Y	3.23±0.26a,X	2.06±0.35b,X
	D	5.93±0.02a,X	5.89±0.06a,X	19.25±0.20b,Y	20.96±0.73a,X	1.62±0.01a,Y	0.94±0.02b,Y
15	W	5.88±0.02a,X	5.76±0.01b,Y	30.65±0.07a,X	25.92±0.64b,X	4.37±0.99a,X	2.57±0.08b,X
	D	5.92±0.02a,X	5.85±0.02b,X	30.11±0.28a,Y	25.88±0.69b,X	5.32±0.25a,X	2.55±0.09b,X
18	W	5.76±0.02b,Y	5.89±0.04a,X	26.80±0.71a,Y	23.39±1.23b,X	5.27±0.65a,X	2.07±0.05b,X
	D	5.82±0.02b,X	5.92±0.02a,X	29.31±0.52a,X	24.21±0.22b,X	2.16±0.04a,Y	2.03±0.16a,X

a,b=Different lowercase letters in the same row indicate significant differences ( $p<0.05$ ) between samples in the same muscle during. X,Y=Different capital letters in the same column indicate the significant difference ( $p<0.05$ ) between two muscle in the same sample type. TVB-N=Total volatile basic nitrogen

due to the variety of factors including season, harvesting procedures, biological condition, and methods of killing [17]. Throughout the storage period, pH values of dark muscle were significantly ( $p<0.05$ ) higher than that of white muscle. This situation can be explained by the formation of lactic acid [18], resulting from the depletion of glycogen as a major source of energy under anaerobic conditions due to the intense activity produced in white muscle when catching [19] and leading to a decrease in the pH values of these muscles compared to the dark muscle. Regardless of the treatment, changes in pH values had the same tendency in both muscles during the storage time. However, significant ( $p<0.05$ ) increases followed by a decrease in pH values were observed until days 12 and 15 for oregano and control samples, respectively. The increase in pH may be attributed to the accumulation of alkaline compounds such as ammonia and trimethylamine mainly produced by fish spoilage bacteria and/or to biogenic amines production [20]. The decrease in pH value may be caused by the anaerobic decomposition of glycogen in fish [21]. Comparison among treatments showed that fillets from control developed a higher ( $p<0.05$ ) pH value than their corresponding individuals from treated samples at days 8, 15, and 18 for both muscles. No differences ( $p>0.05$ ) were observed between treatment at days 4 and 12 in both muscles. At the end of the storage, pH values of control were significantly ( $p<0.05$ ) lower than those of treated sample, which might have been caused by producing lactic acid from the growth of lactic acid bacteria [18]. From these results, it is difficult to conclude that the application of oregano in combination with VP can affect the pH value. Thus, pH value is not useful as a physicochemical parameter of fillet quality.

The variation of TVB-N for both muscles of frigate tuna fillets is shown in Table-1. TVB-N formation was reported to increase with time of storage [22]. The initial TVB-N values were significantly lower ( $p<0.05$ ) in white muscle than in dark muscle. These values are

compatible with those reported by Liu *et al.* [16] for skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). In this study, TVB-N values showed a trend to increase with storage time in both muscles for all packed samples until 15 days, followed by a decrease which could denote the low bacterial activity at the end of storage period. The rate of increase in TVB-N in both muscles was in accordance with its rate of increase in mesophilic and psychophilic bacteria. The statistical analysis showed significant ( $p<0.05$ ) differences between dark and white muscles of fillets from control, while no significant ( $p>0.05$ ) differences were observed between both muscles for oregano treated samples at each day of testing. Throughout the storage period, TVB-N values of control were significantly higher ( $p<0.05$ ) in dark muscle than in white muscle, indicating that dark muscle spoiled faster than white muscle. However, in both muscles, treated samples produced significantly lower ( $p<0.05$ ) TVB-N values as compared to control. The significant reduction of TVB-N values in treated samples may be attributed to the combined effect of VP with the antibacterial properties of the phenolic compounds of oregano extract such as carvacrol and thymol [23]. Liu *et al.* [16] reported that 30 mg of nitrogen per 100 g was the limit of acceptability for fresh fish fillet. Only muscles from control exceeded this limit on the 15 days of storage. However, TVB-N values of treated sample were below this limit until the end of the storage and contained lower values. Thus, TVB-N may be considered as a suitable quality index for filleted frigate tuna stored at  $3\pm 1^\circ\text{C}$  under VP.

PV was used for determining the primary product of lipid oxidation [24]. Initial PV of filleted frigate tuna kept under vacuum condition at refrigerated storage was 1.45 and 2.61 meq O<sub>2</sub>/kg of fat for dark and white muscles, respectively. Sohn and Ohshima [25] reported that the levels of lipid peroxides of separated skipjack tuna muscles were higher in dark muscle compared to white muscle throughout the 72 h of ice storage. In addition, Dean [26] reported that dark

muscle has a considerably higher capacity for fatty acid oxidation than the white muscle *in vitro* experiments. Contrary to this and during the almost entire storage period (Table-1), PV in white muscle was significantly ( $p<0.05$ ) higher than in dark muscle and did not exceed the pre-established limit of 20 meq  $O_2$ /kg of fat in all packaged samples throughout the storage period. This may be attributed to the use of intact fillets and VP because in intact fillet, skin and white muscles detain almost the entire surface that comes into contact with air and provides a protective environment for the dark muscle, which means that white muscle has more surface area that comes into contact with oxygen. Thus, white muscles consume a great deal of oxygen and thus prevent it from reaching to the dark muscle; hence, the oxygen availability on the surface area of white muscle is superior, making it much more exposed to lipid oxidation than dark muscle for fillet. This is supported by Undeland *et al.* [27] who reported that dark muscle stored within an intact herring fillet presented lower lipid oxidation when it is stored separated from skin and white muscle. In addition, VP involved complete removal of oxygen with hermetic sealing and prevented fillet from being in direct contact with  $O_2$  resulting in a significant reduction on lipid oxidation during the storage [28].

In this study, VP with plant extract reduced peroxide formation ( $p<0.05$ ) in both muscles. The used plant extract in combination with VP is effective to delay lipid peroxidation in both muscles of frigate tuna fillets stored at refrigerated temperature. On the other hand, in the dark muscle, no difference ( $p>0.05$ ) was observed until 8 days of the storage among all treatments. This stability in dark muscle may be related to the use of intact fillet. From those results, it can be concluded that the major effect on reducing PVs is attributed to the use of VP. However, the presence of oregano extract in the VP led to a further reduction of lipid peroxidation and yielded the lowest PV in both types of fish muscles.

The presence of TBARs is a second breakdown product resulting from the decomposition of lipid hydroperoxides formed during the oxidation process of polyunsaturated fatty acids [29]. Higher ( $p<0.05$ ) initial TBA values were found in dark muscle than in white muscle (Table-2), which might be due to higher lipid content and unsaturated fatty acids in dark muscle. The lower initial TBA values observed in both muscles suggested that secondary lipid oxidation in our fresh fish did not occur during the postmortem handling. Subsequently, from 4 days of storage, TBA content in white muscle was significantly ( $p<0.05$ ) higher than in dark muscle throughout the storage period. These changes in TBA values suggested that hydroperoxide decomposition rate was faster in white muscle than in dark muscle, which might be due to the use of intact fillet with the removal of oxygen. In the present study, TBA values in all samples showed fluctuation in both muscles; there is a trend toward an increase in TBA values up to a certain point during the storage period, followed by a decrease in these values, which is not stable for long periods of time. Practically at each testing day, and regardless of muscle type, higher TBA value ( $p<0.05$ ) was observed in control compared to treated samples. Nevertheless, an inverse result was observed only in dark muscles from control and oregano samples on day 4. Various limits of acceptability were reported for this index. According to Fan *et al.* [30], TBA values of 1-2 mg 3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDA)/kg of fish flesh are usually regarded as the limit beyond which fish normally develop an objectionable flavor. In our study, TBA values exceeded 1 mg MDA/kg in both muscles from control at 12 days of storage.

The installation of lipid oxidation and accumulation of oxidative products can be delayed using natural extract. However, it is necessary to account on that muscle type, removal of oxygen and plant extract application along with other factors that can affect fat content in fish, will contribute to the variation of

**Table-2:** Effect of oregano extract with vacuum-packaging on TBA and FFA in white (W) and dark (D) muscles of frigate tuna fillets stored at refrigerated ( $3\pm 1^\circ C$ ) conditions.

Storage time (days)	Parameters	TBA (n=3) (mg MDA/kg)		FFA (n=3) (% oleic acid)	
		Control	Oregano	Control	Oregano
0	W	0.56±0.01a,Y	0.56±0.01a,Y	3.73±0.05a,Y	3.73±0.05a,Y
	D	0.64±0.01a,X	0.64±0.01a,X	11.54±0.15a,X	11.54±0.15a,X
4	W	0.84±0.04a,X	0.83±0.02a,X	6.55±0.30a,Y	5.45±0.06b,Y
	D	0.57±0.02b,Y	0.64±0.03a,Y	9.47±0.83a,X	6.96±0.20b,X
8	W	0.91±0.06a,X	0.78±0.06b,X	7.80±0.17a,Y	5.75±0.40b,Y
	D	0.66±0.01a,Y	0.65±0.01a,Y	18.83±0.90a,X	14.43±0.52b,X
12	W	1.46±0.01a,X	0.84±0.02b,X	8.28±0.24a,Y	6.61±0.19b,Y
	D	1.12±0.01a,Y	0.77±0.01b,Y	15.65±0.83a,X	12.75±0.41b,X
15	W	0.89±0.01a,X	0.58±0.01b,X	8.42±0.03a,Y	7.61±0.18b,Y
	D	0.63±0.02a,Y	0.55±0.01b,Y	18.25±0.06a,X	13.99±0.11b,X
18	W	1.28±0.02a,X	0.85±0.02b,X	10.30±0.04a,Y	7.51±0.01b,Y
	D	1.31±0.01a,X	0.72±0.12b,Y	20.53±0.37a,X	15.75±0.02b,X

a,b=Different lowercase letters in the same row indicate significant differences ( $p<0.05$ ) between samples in the same muscle. X,Y=Different capital letters in the same column indicate significant difference ( $p<0.05$ ) between two muscle in the same sample type. TBA=Thiobarbituric acid, MDA=3,4-Methylenedioxyamphetamine, FFA=Free fatty acid

MDA content in fisheries products and must have been considered during storage. As a consequence of TBA-results, it can be concluded that the use of oregano extract in combination with VP was effective in retarding TBA formation in both muscles of frigate tuna fillets and can contribute to enhancing oxidative stability and to obtain lower TBA values throughout the storage period.

FFA, indicator of hydrolytic activity, may be accumulated during storage and accelerate quality deterioration of seafood products [31]. The release of FFA may enhance lipid oxidation and off-flavor development and indirectly cause textural proprieties by protein denaturation which is associated with a loss of freshness [32]. In our study, FFA concentration increased with storage time (Table-2) and could be attributable to the lipase and phospholipase activity [17]. Throughout the storage period, and irrespective to the use or not of plant extract, lipid hydrolysis was faster ( $p<0.05$ ) in dark muscle than white muscle. This might be due to the greater lipid content and enzymatic activity presented in dark muscle than in white muscle. However, noticeable decreases followed by an increase were observed only in dark muscle at days 4 and 12, which could be related to the increased lipid oxidation, to the interaction with proteins and/or could be in junction with the growth of some microorganisms using FFA as an energy source [33]. On the other hand, at each testing days, lipid hydrolysis development, in both white and dark muscles, was significantly affected by plant extract application and was higher ( $p<0.05$ ) in control than in treated samples. These results might be attributed to the effect of phenolic compounds of oregano extract on which inhibit enzymatic action liberating FFA. In addition, the use of the protective effect of oregano extract in combination with VP had a synergetic effect on retarding FFA formation of fish muscles.

### Microbiological assessments

The progress of microbial growth in frigate tuna muscles during refrigerated storage under vacuum pack for all treatments is shown in Table-3. The initial loads of mesophilic bacteria counts of vacuum-packed fillets were significantly ( $p<0.05$ ) lower in white muscle than that in dark muscle. Similar results were reported by Mbarki *et al.* [34] without mentioning a specific site sampling of Atlantic bonito (*Sarda sarda*) fillet. The lower initial microbial counts obtained from this study indicated that the fish used was of good quality and might be due to the effect of washing with tap water when filleting. The microbial counts increased significantly ( $p<0.05$ ) with storage time for all samples for both muscles. During the storage time, statistical analysis indicated that mesophilic bacteria were not affected ( $p>0.05$ ) by the muscle type in all treatments, even in control, probably due to the exclusion of oxygen from the pack. However, mesophilic bacteria grew more quickly in control than in treated samples, indicating an antibacterial effect of the used plant extract on fish fillets.

Psychrotrophic bacteria counts were higher than mesophilic bacteria counts indicating that psychrotrophic bacteria constituted the dominant bacterial flora in fish. During the storage period, no significant difference ( $p>0.05$ ) was observed between psychrotrophic bacteria counts of white and dark muscles. However, psychrotrophic bacteria counts in white and dark muscle from the treated sample were lower than control through the most of storage time, indicating antibacterial effects of oregano extract on fish fillets.

Both mesophilic and psychrotrophic bacteria counts exceeded  $6 \log_{10}$  colony-forming unit/g in both muscles from only control at 15 days of the storage. These results indicated that the combination of filleting, antibacterial properties of phenolic compounds of the used plant extract and the removal of oxygen from pack had a beneficial effect on reducing the growth

**Table-3:** Effect of oregano extract with vacuum-packaging on the mesophilic and psychrophilic bacterial counts in white (W) and dark (D) muscles of frigate tuna fillets stored at refrigerated ( $3\pm 1^\circ\text{C}$ ) conditions.

Storage time (days)	Samples	Mesophilic aerobic bacteria (n=3) (log CFU/g)		Psychrotrophic bacteria (n=3) (log CFU/g)	
		Control	Oregano	Control	Oregano
0	W	2.95±0.16a,Y	2.59±0.16a,Y	2.95±0.06a,X	2.95±0.06a,X
	D	3.31±0.15a,X	3.31±0.15a,X	2.86±0.10a,X	2.86±0.10a,X
4	W	3.55±0.08a,X	2.79±0.43b,X	3.74±0.31a,X	3.19±0.15b,X
	D	3.82±0.20a,X	3.31±0.21b,X	3.56±0.32a,X	3.32±0.36a,X
8	W	3.89±0.36a,X	3.35±0.32b,Y	4.12±0.12a,X	3.32±0.28b,X
	D	4.01±0.06a,X	3.87±0.19a,X	3.89±0.16a,X	3.59±0.25a,X
12	W	5.07±0.23a,X	4.36±0.31b,X	4.85±0.42a,X	4.15±0.21b,X
	D	4.93±0.13a,X	4.36±0.33b,X	4.64±0.30a,X	4.02±0.05b,X
15	W	7.05±0.04a,X	5.57±0.10b,X	5.75±0.21a,X	5.36±0.32a,X
	D	6.74±0.38a,X	5.11±0.12b,Y	6.04±0.08a,X	5.10±0.17b,X
18	W	7.39±0.17a,X	5.43±0.24b,X	5.93±0.10a,X	5.39±0.07b,X
	D	7.62±0.14a,X	5.29±0.11b,X	6.01±0.23a,X	5.56±0.09b,X

a,b=Different lowercase letters in the same row indicate significant differences ( $p<0.05$ ) between samples in the same muscle. X,Y=Different capital letters in the same column indicate the significant difference ( $p<0.05$ ) between two muscle in the same sample type, CFU=Colony-forming unit

of mesophilic and psychrotrophic bacteria during refrigerated storage, which may be attributed to the exclusion of oxygen that inhibited the growth of many microorganisms. On the other hand, the smaller size of fillet cooled faster than the whole fish. In addition, filleting increased the surface area and contact with the cold air as well as phenolic compounds. Compared with control, regardless of the muscle type, a microbiological shelf life extension that is more than 3 days was achieved for treated samples with oregano extract, as stated previously by sensory assessments and TVB-N.

#### TPA

The results of TPA of treated and untreated frigate tuna fillets are presented in Table-4 and -5. TPA is the most important attribute for assessing fish freshness that reproduces the jaw action and is influenced in the same species by several factors including size and age of fish, fat content, muscle fibre density, slaughter method, and postmortem factors such as rigor mortis, proteolysis, microbiologic, and storage conditions [35,36].

Hardness is the force needed to create a given deformation in muscle and greatly depends on the structure of the connective tissue [37]. It was significantly reduced during storage time indicating that VP alone cannot maintain the firmness of fillet on a stable level. This fact might be due to the low pH causing muscle protein denaturation [38]. Hardness values of white muscles were significantly ( $p<0.05$ ) higher than those of dark muscles. These differences between the hardness of the two muscles could be due to the differences in proximate composition and enzymatic activity. In addition, dark muscle had a higher proteolytic activity than white muscle [39]. Both white and dark muscles from control were significantly ( $p<0.05$ ) softer than treated samples throughout the storage time, indicating that the use of oregano extract in combination with VP can avoid softening and improve the protein denaturation of fish muscles during storage.

Springiness is the height recovering property of the fish muscle between the end of the first and the beginning of the second compressions [40].

**Table-4:** Effect of oregano extract with vacuum packaging on the hardness, the springiness and the adhesiveness of white (W) and dark (D) muscles of frigate tuna fillets stored at refrigerated ( $3\pm 1^\circ\text{C}$ ) conditions.

Storage time (days)	Parameters Samples	Hardness (n=3) (N)		Springiness (n=3) (ratio)		Adhesiveness (n=3) (N. s)	
		Control	Oregano	Control	Oregano	Control	Oregano
0	W	45.17±0.05a,X	45.17±0.05a,X	1.90±0.03a,Y	1.90±0.03a,Y	0.21±0.03a,Y	0.21±0.03a,Y
	D	45.02±0.11a,X	45.02±0.11a,X	1.97±0.02a,X	1.97±0.02a,X	0.43±0.02a,X	0.43±0.02a,X
4	W	44.49±0.37b,X	45.08±0.05a,X	1.59±0.03a,Y	1.65±0.14a,X	0.12±0.03a,Y	0.16±0.02a,Y
	D	43.11±0.10b,Y	43.94±0.10a,Y	1.98±0.01a,X	1.75±0.04b,X	0.31±0.03b,X	1.29±0.06a,X
8	W	40.08±0.81b,X	42.22±0.08a,X	1.70±0.02a,X	1.72±0.04a,X	0.11±0.04b,Y	1.17±0.03a,X
	D	38.14±0.08b,Y	39.14±0.05a,Y	1.70±0.02a,X	1.71±0.03a,X	1.19±0.02a,X	1.25±0.04a,X
12	W	38.76±0.28b,X	41.06±0.05a,X	1.62±0.05b,X	1.75±0.06a,X	1.07±0.05a,X	1.09±0.02a,X
	D	37.56±0.50b,Y	39.14±0.15a,Y	1.67±0.02a,X	1.71±0.02a,X	1.13±0.04a,X	1.14±0.06a,X
15	W	35.29±0.26b,X	40.03±0.11a,X	1.53±0.03b,X	1.64±0.03a,X	1.03±0.05a,X	1.12±0.05a,X
	D	33.28±0.14b,Y	35.45±0.27a,Y	1.63±0.07a,X	1.65±0.02a,X	1.07±0.02b,X	1.17±0.02a,X
18	W	30.28±0.24b,X	35.84±0.18a,X	1.42±0.04a,Y	1.53±0.14a,X	0.90±0.10a,X	0.83±0.02a,X
	D	28.05±0.21b,Y	31.65±0.31a,Y	1.57±0.02a,X	1.48±0.02b,X	1.05±0.04a,X	0.90±0.04b,X

a,b=Different lowercase letters in the same row indicate significant differences ( $p<0.05$ ) between samples in the same muscle. X,Y=Different capital letters in the same column indicate the significant difference ( $p<0.05$ ) between two muscle in the same sample type. TPA=Texture profile analysis

**Table-5:** Effect of oregano extract with vacuum packaging on the resilience and the chewiness of white (W) and dark (D) muscles of frigate tuna fillets stored at refrigerated ( $3\pm 1^\circ\text{C}$ ) conditions.

Storage time (days)	Parameters Samples	Resilience (n=3) (ratio)		Chewiness (n=3) (N)	
		Control	Oregano	Control	Oregano
0	W	0.003±0.001a,X	0.003±0.001a,X	1.15±0.04a,X	1.15±0.04a,X
	D	0.001±0.000a,Y	0.001±0.000a,Y	1.07±0.10a,X	1.07±0.10a,X
4	W	0.005±0.000a,X	0.004±0.001a,X	0.98±0.06a,X	1.08±0.05a,X
	D	0.001±0.000a,Y	0.001±0.001a,Y	1.01±0.01b,X	1.21±0.10a,X
8	W	0.010±0.003a,X	0.005±0.005a,X	0.91±0.02a,X	0.92±0.06a,X
	D	0.000±0.000a,Y	0.001±0.000a,Y	0.90±0.11a,X	0.88±0.04a,X
12	W	0.001±0.001a,X	0.004±0.001b,X	0.80±0.01a,X	0.82±0.04a,X
	D	0.001±0.000a,X	0.001±0.001a,Y	0.73±0.06a,X	0.74±0.06a,X
15	W	0.002±0.001a,X	0.003±0.002a,X	0.75±0.13b,X	0.85±0.06a,X
	D	0.000±0.000a,Y	0.001±0.001a,X	0.64±0.02a,X	0.72±0.04a,Y
18	W	0.003±0.002a,X	0.002±0.001a,X	0.62±0.03b,X	0.69±0.04a,X
	D	0.000±0.000 a,Y	0.000±0.000 a,Y	0.56±0.04a, X	0.62±0.04a,X

a,b=Different lowercase letters in the same row indicate significant differences ( $p<0.05$ ) between samples in the same muscle. X,Y=Different capital letters in the same column indicate the significant difference ( $p<0.05$ ) between two muscle in the same sample type. TPA=Texture profile analysis

Springiness decreased in all samples over time and might be caused by cathepsins [41]. At day 0, the springiness value of white muscle was significantly ( $p < 0.05$ ) lesser than dark muscle. However, no significant differences ( $p > 0.05$ ) on the springiness of white and dark muscle were observed in the rest of the storage period. No significant differences in springiness values of both treatments were observed either. These results indicated that oregano extract had a major effect on reducing the springiness of only dark muscle.

Adhesiveness is the work needed to pull the compressing plunger from sample [42]. A significant decrease in the adhesiveness of white muscle from treated and control was observed until 4 and 8 days of storage, respectively, followed by a marked increase in these values on the next testing day. The same tendency was observed for dark muscle, where adhesiveness increased markedly on days 4 and 8 in treated and control, respectively. Significant ( $p < 0.05$ ) differences in adhesiveness were observed between the dark and white muscles of the treated samples only at 4 and 8 days of the storage, respectively, where each muscle of the treated groups was significantly ( $p < 0.05$ ) higher than control. However, adhesiveness values of dark muscle were significantly higher than those of white muscle from each treated and control groups at 4 and 8 days, respectively. The increase in adhesiveness might be due to the microbial growth resulting in proteins degradation [43]. For the rest of the storage period, no significant ( $p > 0.05$ ) differences on adhesiveness values were observed between treatments as well as both muscles type. Thus, the combination of the use of oregano extract with VP seemed to improve the adhesiveness of frigate tuna muscles on the earlier stage of storage. In addition, oregano extract seemed to have a better effect on dark muscle compared to white muscle.

The elasticity of the fish muscles, given in resilience, was significantly ( $p < 0.05$ ) higher in the white muscle than in the dark muscle throughout the experiment. Regardless of muscle forms, changes in resilience with time were not significant ( $p > 0.05$ ) between both treatments. Therefore, the combined application of oregano and VP did not affect the elasticity of the white and dark muscles.

Chewiness is the work required to masticate a solid food to a steady state of swallowing [37]. Chewiness was affected in all samples and decreased with storage time. No significant ( $p > 0.05$ ) differences in chewiness of white and dark muscle were observed throughout the storage. Statistical data showed that treatment did not affect the chewiness of both muscles, indicating that the application of oregano extract in combination with VP cannot enhance the chewiness of both white and dark muscles.

Consequently, VP alone cannot enhance texture parameters of frigate tuna muscles. The combined use of VP and oregano extract can alter the texture parameters and had the major effect on only hardness,

adhesiveness, and springiness of both white and dark muscles of frigate tuna fillets.

## Conclusion

Based on the sensory assessment, the shelf life of both frigate tuna muscles was 12 days for the control and 18 days for the treated groups. The microbiological results showed that the microbial load was not affected by the type of muscle during the refrigerated ( $3 \pm 1^\circ\text{C}$ ) storage since skin and white muscle provide together a protective environment for dark muscle as in the intact fillet or even in the whole fish. It can be concluded that the test portion from the white/dark muscle was sufficient to estimate the microbiological quality of the analyzed product.

The effect of the combination of oregano extract with VP on white and dark muscles of frigate tuna fillet stored as intact fillets without skin removal revealed lower in the chemical and microbiological indices due to the antioxidant and antimicrobial properties of the extract that enhanced texture parameters. Such combination can further delay the deterioration of fish freshness as they have a promising cumulative effect that can be used by the seafood processing industry to extend the shelf life of seafood products.

## Authors' Contributions

TL, TMH, and FO: Conceived and designed study. TL, YU, and ARK: Collected samples and performed the experiments. TL: Performed the statistical analysis. TL, TMH, and FO: Drafting and revising the manuscript critically for important intellectual content. All authors read and approved the final manuscript.

## Acknowledgments

This research was done in the Biotechnology Laboratory of the Department of Seafood Processing Technology, Faculty of Fisheries, Cukurova University, Adana, Turkey. This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

## Competing Interests

The authors declare that they have no competing interests.

## Publisher's Note

Veterinary World remains neutral with regard to jurisdictional claims in published institutional affiliation.

## References

1. Pal, J., Shukla, B.N., Maurya, A.K., Verma, H.O., Pandey, G. and Amitha. (2018) A review on role of fish in human nutrition with special emphasis to essential fatty acid. *Int. J. Fish. Aquat. Stud.*, 6(2): 427-430.
2. Chaijan, M., Klomklao, S. and Benjakul, S. (2013) Characterisation of muscles from frigate mackerel (*Auxis thazard*) and catfish (*Clarias macrocephalus*). *Food Chem.*, 139(1-4): 414-419.
3. Goulas, A.E. and Kontominas, M.G. (2007) Effect of

- modified atmosphere packaging and vacuum packaging on the shelf-life of refrigerated chub mackerel (*Scomber japonicus*): Biochemical and sensory attributes. *Eur. Food Res. Technol.*, 224(5): 545-553.
4. Saez, M.I., Martínez, T.F., Cardenas, S., Suarez, M.D. (2015) Effects of different preservation strategies on microbiological counts, lipid oxidation and color of cultured meagre (*Argyrosomus regius*, L.) fillets. *J. Food Process. Pres.*, 39(6): 768-775.
  5. Ozogul, F., Polat, A. and Ozogul, Y. (2004) The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). *Food Chem.*, 85(1): 49-57.
  6. Perez-Alonso, F., Aubourg, S.P., Rodriguez, O. and Barros-Velazques, J. (2004) Shelf life extension of Atlantic pomfret (*Brama brama*) fillets by packaging under vacuum-skin system. *Eur. Food Res. Technol.*, 218(4): 313-317.
  7. Kenar, M., Ozogul, F. and Kuley, E. (2010) Effects of rosemary and sage tea extracts on the sensory, chemical and microbiological changes of vacuum-packed and refrigerated sardine (*Sardina pilchardus*) fillets. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 45(11): 2366-2372.
  8. Ariyawansa, K., Wijendra, D. and Senadheera, S. (2003) Quality index method developed for Frigate tuna (*Auxis thazard*). *Sri Lanka J. Aquat. Sci.*, 8(1): 95-109.
  9. Woyewoda, A.D., Shaw, S.J., Ke, P.J. and Burns, B.G. (1986) Recommended laboratory methods for assessment of fish quality. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.*, 1448(1): 2-5.
  10. Antonocopoulos, N. (1973) Bestimmung des fluchtigen basenstickstoffes. In: Ludorf, W. and Meyer, V., editors. Fische und Fischerzeugnisse. Aulage Verlag Paul Prey, Berlin. p224-225.
  11. AOCS. (1994) The official methods and recommended practices of the American Oil Chemists, Ca 5a-40, Cd 8-53. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 60(2): 1520-1523.
  12. Tarladgis, B.G., Watts, B.M. and Younathan M.T. (1960) A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 37(1): 44-48.
  13. ISO. (2017) Microbiology of the Food Chain Preparation of Test Samples, Initial Suspension and Decimal Dilutions for Microbiological Examination Part 3: Specific Rules for the Preparation of Fish and Fishery Products. International Standardization Organization, Geneva, Switzerland. p16.
  14. ISO. (2013) Microbiology of the Food Chain Horizontal Method for the Enumeration of Microorganisms Part 2: Colony Count at 30°C by the Surface Plating Technique. International Standardization Organization, Geneva, Switzerland. p12.
  15. ISO. (2001) Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs Horizontal Method for the Enumeration of Psychrotrophic Microorganisms. International Standardization Organization, Geneva, Switzerland. p8.
  16. Liu, S., Li, X., Zhou, X., Zhang, X. and Ding, Y. (2014) Comparative study of basic characteristics of ordinary and dark muscle in skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). *Food Sci. Biotechnol.*, 23(5): 1397-1404.
  17. Mazorra-Manzano, M.A., Pacheco-Aguilar, R., Diaz-Rojas, E.I. and Lugo-Sanchez, M.E. (2000) Postmortem changes in black skipjack muscle during storage in ice. *J. Food Sci.*, 65(5): 774-779.
  18. Li, Q., Li, D., Qin, N., Hong, H. and Luo, Y. (2016) Comparative studies of quality changes in white and dark muscles from common carp (*Cyprinus carpio*) during refrigerated (4°C) storage. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 51(5): 1130-1139.
  19. George, J. C. and Don Stevens, E. (1978) Fine structure and metabolic adaptation of red and white muscles in tuna. *Environ. Biol. Fishes.*, 3(2): 185-191.
  20. Ruiz-Capillas, C. and Moral, A. (2005) Sensory and biochemical aspects of quality of whole bigeye tuna (*Thunnus obesus*) during bulk storage in controlled atmospheres. *Food Chem.*, 89(3): 347-354.
  21. Song, Y., Liu, L., Shen, H., You, J. and Luo, Y. (2011) Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). *Food Control*, 22(3-4): 608-615.
  22. Jinadasa, B.K. (2014) Determination of quality of marine fishes based on total volatile base nitrogen test (TVB-N). *Natl. Sci.*, 12(5): 106-111.
  23. Burt, S. (2004) Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 94(3): 223-253.
  24. De Boer, A.A., Ismail, A., Marshall, K., Bannenberg, G., Yan, K. L. and Rowe, W.J. (2018) Examination of marine and vegetable oil oxidation data from a multi-year, third-party database. *Food Chem.*, 254: 249-255.
  25. Sohn, J. and Ohshima, T. (2010) Control of lipid oxidation and meat color deterioration in skipjack tuna muscle during ice storage. *Fish. Sci.*, 76(4): 703-710.
  26. Dean, J. (1969) The metabolism of tissues of thermally acclimated trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 29(1): 185-196.
  27. Undeland, I., Ekstrand, B. and Lingnert, H. (1998) Lipid oxidation in herring (*Clupea harengus*) light muscle, dark muscle, and skin, stored separately or as intact fillets. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75(5): 581-590.
  28. Johnson, D. and Decker, E. (2015) The role of oxygen in lipid oxidation reactions: A review. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, 6(1): 171-190.
  29. Messina, C.M., Bono, G., Renda, G., La Barbera, L. and Santulli, A. (2015) Effect of natural antioxidants and modified atmosphere packaging in preventing lipid oxidation and increasing the shelf-life of common dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) fillets. *LWT Food Sci. Technol.*, 62(1): 271-277.
  30. Fan, W., Chi, Y. and Zhang, S. (2008) The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf-life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. *Food Chem.*, 108(1): 148-153.
  31. Asghari, M., Shabanpour, B. and Pakravan, S. (2014) Evaluation of some qualitative variations in frozen fillets of beluga (*Huso huso*) fed by different carbohydrate to lipid ratios. *J. Food Sci. Technol.*, 51(3): 430-439.
  32. Abroha, B., Admassu, H., Mahmud, A., Tsighe, N., Shui, X.W. and Fang, Y. (2018) Effect of processing methods on nutritional and physicochemical composition of fish: A review. *MOJ Food Process. Technol.*, 6(4): 376-382.
  33. Anderson, M. and Ravesi, E. (1968) Relation between protein extractability and free fatty acid production in cod muscle aged in ice. *J. Fish. Res. Board Can.*, 25(10): 2059-2069.
  34. Mbarki, R., Sadok, S., Barkallah, I. (2008) Influence of Gamma-irradiation on microbiological, biochemical, and textural properties of bonito (*Sarda sarda*) during chilled storage. *Food Sci. Technol. Int.*, 14(4): 367-373.
  35. Pereira de Abreu, D., Lago, M., Sartal, A., Rodriguez-Bernaldo de Quirós A. and Sendon R. (2016) Evaluation of the effectiveness of a paper containing nanoparticles of silver combined with moisture absorbers over quality of tuna snacks. *J. Food Chem. Nanotechnol.*, 2(1): 85-91.
  36. Zhao, Y., Yang, X., Li, L., Hao, S., Wei, Y., Cen, J. and Lin, H. (2016). Chemical, microbiological, color and textural changes in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets sterilized by ozonated water pretreatment during frozen storage. *J. Food Process. Preserv.*, 41(1): e12746.
  37. Xavier, K.A.M, Sreenath, P.G., Sil, S., Ravishankar, C.N., Bindu, J., Gopal, T.K.S. and Vijayan, P.K. (2007) Effect of filling medium on heat penetration characteristics and texture of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) in indigenous polymer coated easy open end tin free steel cans. *Fish. Technol.*, 44(2): 159-166.
  38. Kim, Y.H.B., Warner, R.D. and Rosenfold, K. (2014) Influence of high pre-rigor temperature and fast pH fall on

- muscle proteins and meat quality: A review. *Anim. Prod. Sci.*, 54(4): 375-395.
39. Kristinsson, H.G., Lanier, T.C., Halldorsdottir, S.M., Geirsdottir, M. and Park, J.W. (2014) Fish protein isolate by pH shift. In: Park, J.W., editor. *Surimi and Surimi Seafood*. CRC Press, Taylor and Francis, Boca Raton. p169-192.
40. Viji, P., Tanuja, S., Ninan, G., Lalitha, K.V., Zynudheen, A.A., Binsi, P.K. and Srinivasagopal, T.K. (2015) Biochemical, textural, microbiological and sensory attributes of gutted and ungutted sutchi catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) stored in ice. *J. Food Sci. Technol.*, 52(6): 3312-3321.
41. Li, Q., Zhang, L., Lu, H., Song, S. and Luo, Y. (2017) Comparison of postmortem changes in ATP-related compounds, protein degradation and endogenous enzyme activity of white muscle and dark muscle from common carp (*Cyprinus carpio*) stored at 4°C. *LWT Food Sci. Technol.*, 78(1): 317-324.
42. Nayak, N. and Pathak, V. (2017) Effect of plum puree on quality characteristics and sensory attributes of functional chevon patties. *J. Anim. Res.*, 7(1): 59-68.
43. Lopez-Caballero, M., Gomez-Guillén, M., Perez-Mateos, M. and Montero, E. (2005) A functional chitosan-enriched fish sausage treated by high pressure. *J. Food Sci.*, 70(3): M166-M171.

\*\*\*\*\*