

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET
POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ BATNA1 -BATNA-
INSTITUT DES SCIENCES VÉTÉRINAIRES
ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES



THÈSE

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière

Sciences vétérinaires

Option

Histologie et histopathologie des animaux domestiques

Présentée Par

LAKEHAL Saliha

THÈME

**IMPACT DE LA CONGÉLATION ET LA
DÉCONGÉLATION SUR LA QUALITÉ DE VIANDE
BOVINE**

COMPOSITION DU JURY :

Président :MEZIANE Toufik

Professeur - U. Batna 1

Examineur :KHENENOU Tarek

Professeur - U. Souk Ahras

Examineur :BELKHIRI Yamina

MCA - U. Batna 2

Examineur :BENBIA Souheyla

MCA - U. Batna 2

Examineur :FERHAT Radhia

MCA - U. Batna 1

Rapporteur :BENNOUNE Omar

Professeur - U. Batna 1

ANNÉE UNIVERSITAIRE : 2021-2022

DÉDICACE

À mes chers parents

À mes frères et sœurs

À mon petit « Abdou »

LAKHAL Salha

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce travail.

Je tiens à remercier Pr BENNOUNE Omar, Professeur à l'université Batna1 pour son encadrement, son encouragement et son esprit de critique vis-à-vis de mon travail.

Un remerciement particulier aux membres de jury, Pr MEZIANE Toufik pour accepter la présidence de notre jury de thèse ainsi que Pr KHENENOU Tarek, Dr BENBIA Souheyla, Dr BELKHIRI Yamina, Dr FERHAT Radhia qui nous ont honoré par leur présence et avoir accepté d'être membres de jury et participer à l'évaluation de la présente thèse.

J'adresse ma sincère et profonde reconnaissance au Dr BENMAHDI Fatiha, université Batna1, pour l'aide inestimable à la réalisation des analyses physicochimiques.

J'adresse mon sincère remerciement également à l'Inspecteur d'abattoir, Dr IDIR pour sa disponibilité et son aide, Je lui exprime toute ma gratitude.

J'adresse mes vifs remerciements à Pr. AYACHI Ammar et Dr. NOUCER Ferhat pour leurs orientations, leurs conseils pour la réalisation de ce travail.

J'adresse mes remerciements à Mme KADRINE Naima pour son service qu'elle m'a offert le long de mon travail.

Des remerciements particuliers vont à l'adresse de tout le staff technique du laboratoire de chimie et chimie de l'environnement, université Batna1, en particulier Mme MECHACHETI Fatima.

Le dernier de mes remerciements n'est pas le moindre et s'adresse à ma famille et en particulier à mes parents, mon meilleur soutien pendant toute ma scolarité, merci pour m'avoir donné le goût du travail bien fait et de m'avoir poussé si loin dans mes études. À mes frères et sœurs qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérances.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

% : pourcentage
°C : degré Celsius
µm : micromètre
ACP: Analyse en Composantes Principales
aw: Activité de l'eau
CIM : cristaux de glace intramusculaire
cm : centimètre
CP1: première composante principale
CP2 : deuxième composante principale
D : diamètre
DF : dimension fractale
Ec : conductivité électrique
FM : fibre musculaire
g : gramme
H&E: coloration à l'hématoxyline et à l'éosine
HCl : acide chlorhydrique
Kg : kilogramme
M : mole
MDA : malondialdéhyde
mg : milligramme
min : minute
ml : millilitre
mM : millimole
N : normalité
nm : nanomètre
P : périmètre
pH : potentiel hydrogène
S : surface
TA : tissu adipeux
TBA : acide thiobarbiturique
TBARS : substances actives de l'acide thiobarbiturique
TC : tissu conjonctif
TCA : acide trichloracétique
X : grossissement

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE	I
REMERCIEMENTS	II
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	III
TABLE DES MATIÈRES	IV
LISTE DES FIGURES	VIII
LISTE DES TABLEAUX	X
INTRODUCTION.....	2
CHAPITRE 1 : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	5
1 LA VIANDE : PROPRIÉTÉS ET QUALITÉS	5
1.1 Définition de la viande	5
1.2 Structure d'un muscle squelettique	5
1.2.1 Tissu conjonctif.....	5
1.2.2 Tissu musculaire.....	5
1.2.3 Tissu adipeux	10
1.3 Vascularisation et innervation du muscle squelettique	11
1.4 Contraction musculaire.....	11
1.5 Types de fibres musculaires.....	12
1.6 Composition chimique de la viande	14
1.6.1 Eau.....	15
1.6.2 Protéines	16
1.6.3 Lipides	18
1.6.4 Minéraux et vitamines	18
1.7 Transformation du muscle en viande	20
1.7.1 Phase de pantelance.....	21
1.7.2 Phase de rigidité cadavérique ou <i>rigormortis</i>	21
1.7.3 <i>Phase de maturation</i>	22
1.8 Les qualités de la viande.....	24
2 CONGÉLATION	27
2.1 Processus de congélation	27
2.1.1 Première phase dite pré-refroidissement.....	27
2.1.2 Deuxième phase dite phase de transition	27

2.1.3 Troisième phase dit solidification :	27
2.2 La formation des cristaux de glace	28
2.3 Température de congélation des aliments	29
2.4 Facteurs influençant la cristallisation dans les produits alimentaires	31
2.4.1 Vitesse de congélation	31
2.4.2 Entreposage congelé	33
2.5 Procédés de congélation	34
2.5.1 Congélateurs où la production de froid est mécanique	34
2.5.2 Congélation cryogénique	37
2.6 Évaluation de la microstructure des aliments congelés	38
2.6.1 Microscopie optique	38
2.6.2 Imagerie par résonance magnétique	39
2.6.3 Microscopie laser à balayage confocal	39
2.6.4 Système de traitement d'images des micro-tranches	40
2.6.5 Micro-tomographie à rayon X	40
2.6.6 Imagerie hyperspectrale	40
2.7 Effets de la congélation/décongélation sur la qualité de la viande	41
2.7.1 Capacité de rétention d'eau	41
2.7.2 Tendreté	41
2.7.3 Couleur	42
2.7.4 Flaveur	44
2.7.5 Structure de la viande	45
2.7.6 Croissance microbienne	47
2.7.7 Dénaturation des protéines	48
3 LA RÈGLEMENTATION AU SERVICE DU CONSOMMATEUR	50
CHAPITRE 2 : MATÉRIEL ET MÉTHODES	52
1 MATÉRIEL	52
3.1 Matériel biologique	52
3.2 Matériel d'analyse	53
2 MÉTHODES UTILISÉES	54
3.1 Paramètres physico-chimiques et biochimiques	56
3.1.1 Détermination du pH	56
3.1.2 Détermination de l'activité de l'eau	56

3.1.3	Détermination de la conductivité	56
3.1.4	Détermination de pertes parla cuisson.....	57
3.1.5	Détermination de perte à la décongélation	57
3.1.6	Détermination l'oxydation des lipides	57
3.1.7	Détermination de la solubilité des protéines.....	58
3.1.8	Détermination de la couleur.....	59
3.2	Étude histologique.....	60
3.2.1	Réalisation des coupes histologiques	60
3.2.2	Examen des lames	64
3.3	Analyses histomorphométriques	64
3.3.1	Mesures histomorphométriques	64
3.3.2	Détermination de la dimension fractale (D_F)	65
3.4	Analyses statistiques.....	66
CHAPITRE 3 : RÉSULTATS ET DISCUSSION		68
1	ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES.....	68
1.1	pH.....	68
1.2	Activité de l'eau (a_w)	69
1.3	Couleur	70
1.4	Conductivité électrique.....	73
1.5	Oxydation des lipides	74
1.6	Solubilité des protéines.....	75
1.7	Perte à ladécongélation.....	76
1.8	Perte par cuisson	77
2	ÉTUDE HISTOLOGIQUE.....	79
2.1	Effet sur la microarchitecture des muscles	79
2.2	Effet de la congélation sur les cellules musculaires	80
2.3	Effets de la congélation prolongée	81
3	ANALYSES HISTOMORPHOMÉTRIQUES	85
3.1	Diamètre des cristaux de glace.....	85
3.2	Dimension fractale	86
4	ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES (ACP)	90
CONCLUSION		93
RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES.....		95

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	97
PUBLICATION	118

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Organisation des tissus musculaire et conjonctif (Listrat et al., 2015).....	7
Figure 2: Organisation de la fibre musculaire, de la myofibrille et du sarcomère (Mescher, 2018).....	9
Figure 3: Les différents dépôts adipeux du muscle (Komolka et al., 2014).	10
Figure 4: Schéma de la contraction musculaire (Boutouja, 2009)	12
Figure 5: Identification immuno-histologique des fibres (Astruc, 2014).....	14
Figure 6: Composition chimique de la viande	15
Figure 7: Phases de transformation du muscle en viande (Becila - Hioual, 2009)	21
Figure 8: Réaction dans le muscle après la mort et apparition de la rigidité cadavérique (Bazinet et Casteigne, 2011).....	23
Figure 9: Qualités de la viande (Boudechicha, 2014)	24
Figure 10: Courbe de congélation (Tan et al., 2021).....	28
Figure 11: Courbes de congélation de l'eau pure et d'un échantillon alimentaire (Dang et al., 2021).....	30
Figure 12: Proportion d'eau congelée dans un aliment en fonction de la température (Martin, 2001).....	31
Figure 13: Représentation schématique de la formation de micro-cristaux et puis de cristaux de glace pendant la congélation (Nout et al., 2003)	32
Figure 14: Mécanismes de recristallisation (Zhu et al., 2019).....	33
Figure 15: (a) congélateur à air pulsé spirale, (b) congélateur à tunnel linéaire (Meziani, 2011)	34
Figure 16: Congélateur à lit fluidisé (Mulot, 2019).	35
Figure 17: Congélateur par immersion (Muthukumarappan et Marella, 2007).....	36
Figure 18: Principe de fonctionnement d'un congélateur à plaques (Le bail, 2004).	37
Figure 19: Principe de fonctionnement d'un congélateur à tambour (Le bail, 2004).	37
Figure 20: Congélateur cryogénique (Muthukumarappan et Marella, 2007)	38
Figure 21: Représentation colorimétrique du système CIE Lab (Singh et al., 2009)	43
Figure 22: Modifications histologiques des tissus de la viande de poulet après congélation (Ishiguro et Horimizu, 2008).....	46

Figure 23: Modifications microstructurales dans les coupes transversale (A) et longitudinale (B) des muscles porcins, congelés par différentes méthodes, pendant le stockage(Zhang et al., 2019a).	47
Figure 24: Emballage sous vide de la viande.....	53
Figure 25: Les analyses effectuées sur les échantillons	55
Figure 26: Détermination de l'activité de l'eau	56
Figure 27: Courbe d'étalonnage de la concentration des protéines	59
Figure 28: Analyse d'image à l'aide du logiciel Adobe Photoshop CS3.	59
Figure 29: Principales étapes de la réalisation des coupes histologiques	63
Figure 30: Interface du logiciel ImageJ	65
Figure 31: Détermination de la dimension fractale d'un tissu de viande congelée.....	66
Figure 32: Les valeurs de pH de la viande pendant la congélation.	69
Figure 33: Les variations de l'activité de l'eau de la viande pendant la conservation congelée.	70
Figure 34: Effet de la congélation sur la couleur de viande	72
Figure 35: Effet de la durée de congélation sur la conductivité électrique de la viande.	74
Figure 36: Effet de la durée de congélation sur l'oxydation des lipides de viande.....	75
Figure 37: Effet de la durée de congélation sur la solubilité des protéines de viande.	76
Figure 38: Effet de la durée de congélation sur la perte à la décongélation de la viande.	77
Figure 39: Effet de la durée de congélation sur la perte par cuisson de viande.	78
Figure 40: Coupe histologique de la viande fraîche (H&E, X100).....	79
Figure 41: Coupe histologique de la viande congelée pendant deux mois (H&E, X100).....	80
Figure 42: Coupe histologique de la viande congelée pendant quatre mois (H&E, X100).....	81
Figure 43: Coupe histologique de la viande congelée pendant six mois (H&E, X100).....	82
Figure 44: Coupe histologique de la viande congelée pendant huit mois (Calleja, X100)	83
Figure 45: Coupe histologique de la viande congelée pendant dix mois (Calleja, X 100).....	84
Figure 46: Coupe histologique de la viande congelée pendant douze mois (Calleja, X100) ...	85
Figure 47: Effet de la durée de congélation sur l'équivalent du diamètre des cristaux de glace et sur le rapport de la surface relative des cristaux de glace.....	86
Figure 48: Tracés de log S vs log P à différentes périodes de stockage.....	88
Figure 49: Effet de la durée de congélation sur la valeur de la dimension fractale	89
Figure 50: Analyse en composantes principales (ACP) des propriétés des viandes bovines congelés pendant n mois(n = 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12).....	91

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Caractéristiques principales des quatre types de fibres musculaires* d'après Lefaucheur (2010).	13
Tableau 2: Composition de 100 g de tissu musculaire bovin (Souci et al., 2008).	20
Tableau 3: Matériels utilisés en physico-chimie et histologie	53
Tableau 4: Concentration des protéines.....	58
Tableau 5: Analyse en composantes principales.....	90

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Dans la vie quotidienne des algériens, la viande occupe une place centrale dans leur alimentation. Elle entre dans la préparation de variétés de plats des plus traditionnels aux plus actuels (Chikhi et Bencharif, 2016). Elle est liée à des moments de plaisir et de fête, en famille ou entre amis. À cet égard, la congélation de la viande est une pratique courante et répandue dans la plupart des familles et fait partie des habitudes de conservation. En outre, Ce type de conservation est également utilisé dans les produits intermédiaires destinés à la transformation par les industriels, mais aussi dans les produits finis directement disponibles pour les consommateurs (Zhu et al., 2019). Néanmoins, la viande, même à l'état congelé, n'est pas une matière inerte, elle est la cible de modifications aussi bien organoleptique (texture, goût, apparence), que nutritionnelle (oxydation des lipides, des protéines) ou structurelle lors de la congélation proprement dite (Wang et al., 2020; Choi et al., 2018; Daszkiewicz et al., 2018b; Zhang et al., 2019b).

L'eau est un composant majeur présent dans la viande qui se cristallise partiellement lors de la congélation (Kiani et Sun, 2011). Les cristaux de glace sont soumis à des changements de taille, de nombre et de distribution dus aux différences d'énergie de surface entre les cristaux de glace et la phase non congelée (Dang et al., 2021 ;Tan et al., 2021 ; Mulot et al., 2019). L'évolution des cristaux de glace peuvent provoquer des dommages et modifier ainsi la structure tissulaire (Kaale et Eikevik, 2013b).

Les modifications de la taille des cristaux de glace et la migration de l'eau sont sensibles à la durée du stockage (George, 1993 ; Genot, 2000). Elles se produisent lentement à une température constante sur une longue période de stockage et sont fortement accentuées par les fluctuations de température (Gormley et al., 2002; Deng et al., 2021). Ces changements indésirables affecteront à long terme la microstructure des viandes puis altèrent ses qualités une fois décongelés (Agnelli et Mascheroni, 2002; Rahman, 1999).

Dans la réglementation algérienne, l'entreposage congelé commercial (restaurant) ou domicile de viande, n'est pas limité par un délai défini. Par conséquent, notre travail a été orienté de telle manière à faire une étude pour donner un aperçu sur des changements physico-chimique et structurale de viande bovine congelée et conservée à différentes périodes de stockage (2, 4, 6, 8, 10, 12 mois), permettant de recommander un temps de stockage avec une détérioration minimale de la qualité de la viande.

Les techniques histologiques sont fortement recommandées pour révéler l'impact de la congélation sur la microarchitecture de la viande et visualiser ainsi l'effet de la recristallisation sur la structure de la viande. Il est également important de recourir à l'utilisation des progrès technologiques récents et principalement les programmes et les logiciels de traitement, de reconnaissance et d'analyse quantitative des images et pour une meilleure description des cristaux de glace et pour surveiller l'évolution durant la congélation et le stockage. Nous allons essayer d'établir une corrélation entre les paramètres physico-chimiques et le développement des cristaux de glace.

CHAPITRE 1

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1 LA VIANDE : PROPRIÉTÉS ET QUALITÉS

1.1 Définition de la viande

La viande est considérée comme un aliment de choix en raison de sa valeur nutritive, sa richesse en protéines et la nature de celles-ci en font un aliment indispensable pour une ration alimentaire équilibrée (Oumokhtar et al., 1998).

La viande est le résultat de l'évolution *post-mortem* du tissu musculaire squelettique et du tissu adipeux. La connaissance de la structure de ces tissus est donc préliminaire et indispensable à la bonne compréhension des mécanismes responsables de la qualité de la viande (El- rammouz, 2005).

1.2 Structure d'un muscle squelettique

Le muscle squelettique est un tissu très différencié et hautement spécialisé ; il représente 35 à 60% du poids vif de l'animal et est constitué de différents tissus tels que les fibres musculaires, le tissu conjonctif, le tissu adipeux intramusculaire, les vaisseaux sanguins et les nerfs (Listrat et al., 2015).

1.2.1 Tissu conjonctif

Le muscle strié est formé d'un ensemble de cellules musculaires (fibres) qui ne sont pas groupées au hasard mais disposées juxtaposées parallèlement, organisées en faisceaux, entourés par un épimysium, c'est une lame de tissu conjonctif qui entoure l'ensemble du muscle, pouvant posséder une épaisseur de plusieurs millimètres chez le bovin (Jurie et al., 2010). De l'épimysium partent, vers l'intérieur, de fines cloisons qui viennent entourer chaque faisceau de cellules musculaires et réalisent le péri-mysium (10 à 200 μm d'épaisseur). Enfin, chaque cellule musculaire squelettique est elle-même entourée par une délicate couche de tissu conjonctif, l'endomysium, c'est le niveau le plus fin (0,2 μm) (Taylor, 2004) (Figure 01).

1.2.2 Tissu musculaire

Le tissu musculaire est composé de cellules spécialisées appelées cellules musculaires ou fibres musculaires (Figure 01). Ce sont de grandes cellules de 10 à 100 μm de diamètre (Gartner, 2017). La membrane cellulaire ou sarcolemme est en contact étroit avec une très fine

quantité ou couche de tissu conjonctif (endomysium) qui relie plusieurs fibres musculaires entre elles (Mescher, 2018).

Dans le cytoplasme ou sarcoplasme, on trouve des organites classiques à toutes les cellules :

- plusieurs centaines de noyaux situés sur la face interne du sarcoplasme : la cellule musculaire est plurinucléée ;
- un appareil de golgi, complexe de citernes limitées par une membrane, il intervient au cours de différents métabolismes cellulaires;
- des mitochondries, qui jouent un rôle très important dans les processus énergétiques (chaines de transfert des électrons et phosphorylation oxydative);
- de petites gouttelettes lipidiques (Eurell et Frappier, 2006).

Mais également des organites typiques aux cellules musculaires :

- des granules de glycogènes, réserve d'énergie pour la contraction musculaire;
- un système de contraction fait de filaments protéiques disposés parallèlement au grand axe de la fibre et qui lui donne son aspect strié. L'ensemble est maintenu en place par une sorte de squelette interne, le cytosquelette (Gartner, 2017).

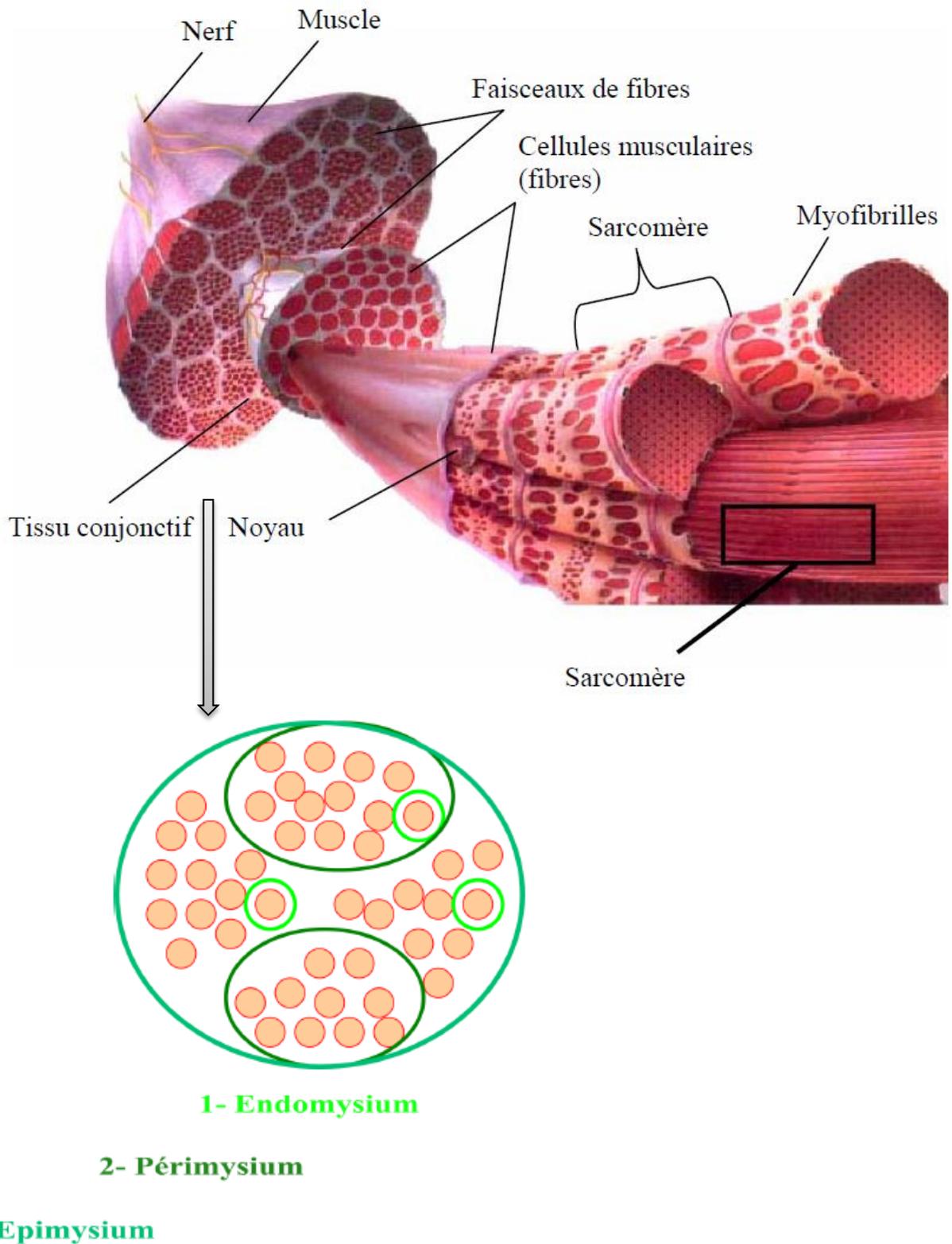


Figure 1: Organisation des tissus musculaire et conjonctif (Listrat et al., 2015)

La striation des muscles squelettiques est le résultat de l'alternance de zones sombres (Figure 2), ou disque A d'une longueur de 1 μm et de zones claires ou disque I d'une longueur de 1,6 μm . Les disques I sont séparés en deux par une « cloison transversale » : la ligne Z. les stries Z se prolongent d'une myofibrille à l'autre pour finalement se raccorder au sarcolemme. Elles constituent un véritable squelette interne de la cellule et ont un rôle de soutien important (Astruc, 2014). Elles permettent également de rendre synergique le travail des différentes unités contractiles. Au centre du disque A, il existe une zone moins dense : la zone H, elle est séparée en deux par une ligne transversale plus sombre : la ligne M (Astruc, 2014 ; Listrat et al., 2015).

Chaque myofibrille est formée de nombreux myofilaments, parallèles de deux types : myofilaments fins et myofilaments épais. Les filaments épais s'étendent d'une extrémité à l'autre du disque A au contraire, les filaments minces commencent de la strie Z, se prolongent dans le disque A, mais se terminent sur le bord de la zone centrale H des disques A. À l'intérieur des zones denses des disques A, il existe des ponts entre les myofilaments fins et les myofilaments épais adjacents (Astruc, 2014).

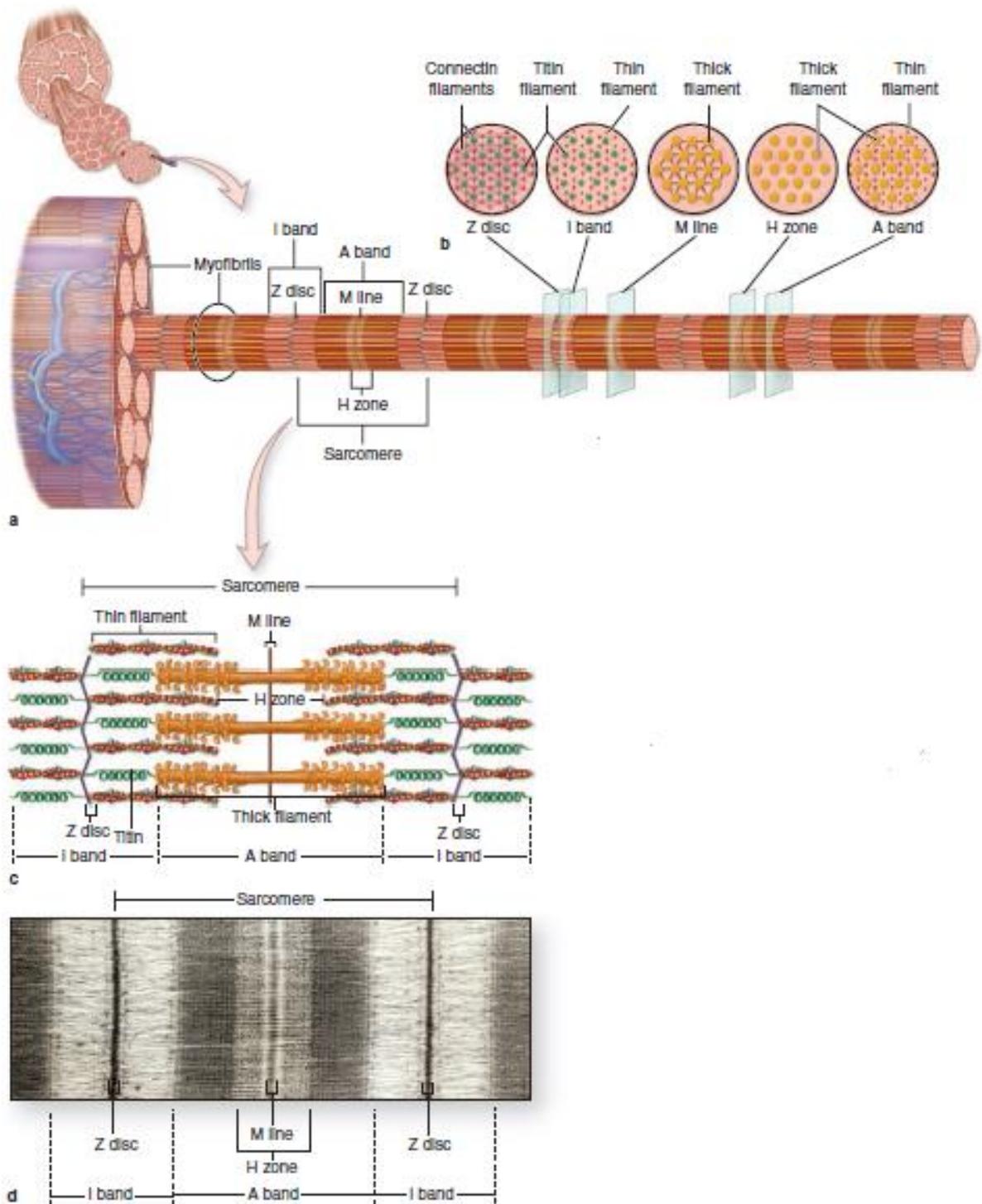


Figure 2: Organisation de la fibre musculaire, de la myofibrille et du sarcomère (Mescher, 2018).

1.2.3 Tissu adipeux

Le tissu conjonctif musculaire renferme des adipocytes au niveau du *périmysium*; ils constituent le persillé, Ils représentent 1 à 7 % du poids du muscle et jouent un rôle majeur dans la qualité gustative (la flaveur). Outre le persillé, trois classes de dépôts adipeux sont présents dans la carcasse : le marbré ou gras intermusculaire qui sont situés entre les muscles (Figure 03). Ce sont les dépôts les plus développés chez les ruminants. Ils représentent de 8 à 15 % du poids de carcasse, soit plus de la moitié de la masse adipeuse totale (Chatibi, 2011), le gras de couverture(sous-cutané) et le graisse interne au niveau des cavités thoracique, abdominale et pelvienne (Bas et Sauvant , 2001).

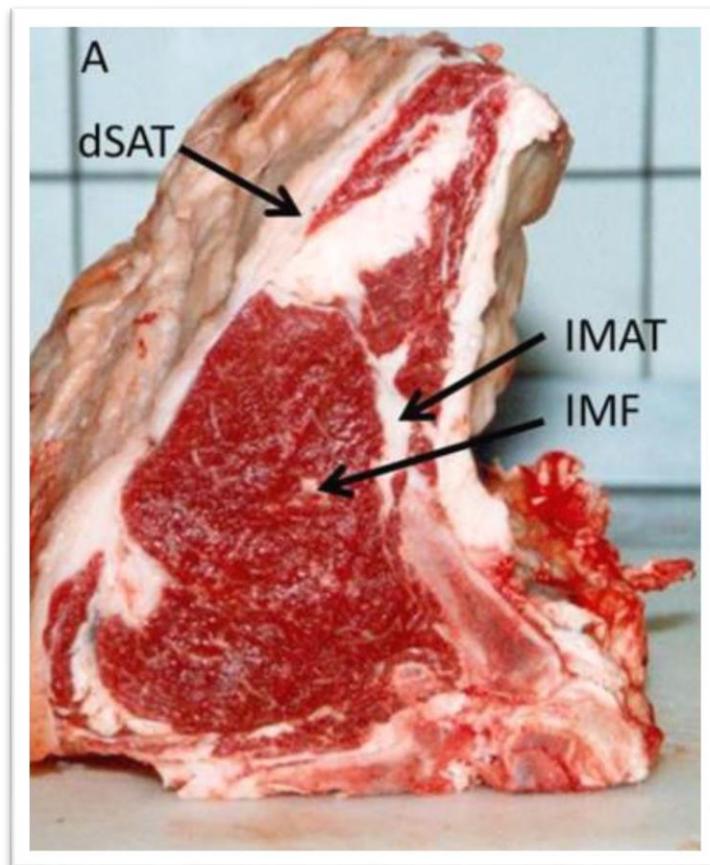


Figure 3: Les différents dépôts adipeux du muscle (Komolka et al., 2014).
(IMAT : intermuscular adipose tissue, IMF : intramuscular fat, dSAT : Deep subcutaneous adipose tissue.)

1.3 Vascularisation et innervation du muscle squelettique

La fonction musculaire normale dépend du système vasculaire. Les gros vaisseaux sanguins pénètrent dans l'épimysium puis se ramifient dans le muscle jusqu'à l'épimysium. De fines branches émergent des artères périphériques et traversent les fibres musculaires, parallèlement à leurs grands axes. Ils produisent de nombreux capillaires qui traversent l'endomysium. Les connexions croisées fréquentes entre les capillaires forment un réseau allongé qui entoure chaque fibre musculaire. Cette structure offre une grande surface d'échange sur laquelle se produit la diffusion de l'O₂. Dans les cellules musculaires, l'O₂ capturé est transféré aux mitochondries pour la synthèse d'énergie (Eurell et Frappier, 2006).

L'innervation du muscle squelettique est souvent mixte, y compris l'innervation sensitive assurée par les faisceaux neuromusculaires, tandis que l'innervation motrice des fibres musculaires est assurée par les motoneurones (Laure, 2008). Les motoneurones (avec des axones entre 10 et 17 µm de diamètre) innervent les fibres musculaires squelettiques. Lorsqu'ils atteignent le muscle, leurs axones se ramifient pour établir des contacts synaptiques (plaques motrices) avec plusieurs fibres musculaires. En revanche, les fibres musculaires sont innervées par un seul motoneurone (Eurell et Frappier, 2006). Une unité motrice est constituée d'un motoneurone, de son axone et des fibres musculaires qu'il innerve. Les unités motrices sont les plus petits éléments contractiles sur lesquels le système nerveux peut fonctionner (Eurell et Frappier, 2006).

1.4 Contraction musculaire

La contraction musculaire correspond à un raccourcissement du sarcomère dû au glissement relatif des filaments d'actine et de myosine : les deux disques Z qui définissent le sarcomère sont rapprochés l'un de l'autre (Figure 04). Ce phénomène se produisant simultanément sur tous les sarcomères de la cellule, il en résulte un raccourcissement global de la cellule musculaire le long de l'axe longitudinal (Marieb, 1993).

Suite à une excitation de la fibre, initiée au niveau de la plaque motrice et se propage sur toute la surface de la cellule. Cette excitation est transmise au réticulum sarcoplasmique induisant la libération du stock de Ca⁺² engendrant une augmentation de la concentration du Ca⁺² au niveau du sarcolemme. Ce Ca⁺² vient se fixer sur la troponine provoquant un changement de conformation de cette dernière et libérant le domaine d'interaction de la myosine. La tropomyosine est constituée de deux chaînes protéiques enroulées autour du filament d'actine et peut masquer ou démasquer le site de liaison actine/myosine (Melzer et al., 1995).

En absence de calcium la tropomyosine empêche la tête de myosine d'interagir avec les filaments d'actine et en présence de calcium, et sous influence de la troponine, la tropomyosine se déplace légèrement, permettant ainsi l'interaction entre actine et myosine. Au terme de cette étape, la myosine est fixée à l'actine permettant l'activation de la fonction ATPasique de la myosine (Coibion, 2008). L'hydrolyse de l'ATP génère une rotation de la tête de myosine et un déplacement des molécules d'actine par rapport aux molécules de myosine. Les têtes de myosine se déplacent alors le long du myofilament d'actine. Celui-ci est alors entraîné vers la ligne M, provoquant le rapprochement des disques Z. Ce mécanisme est à l'origine du raccourcissement du sarcomère, et à plus grande échelle, de l'ensemble de la fibre musculaire donc de la contraction musculaire(Charton, 2010).

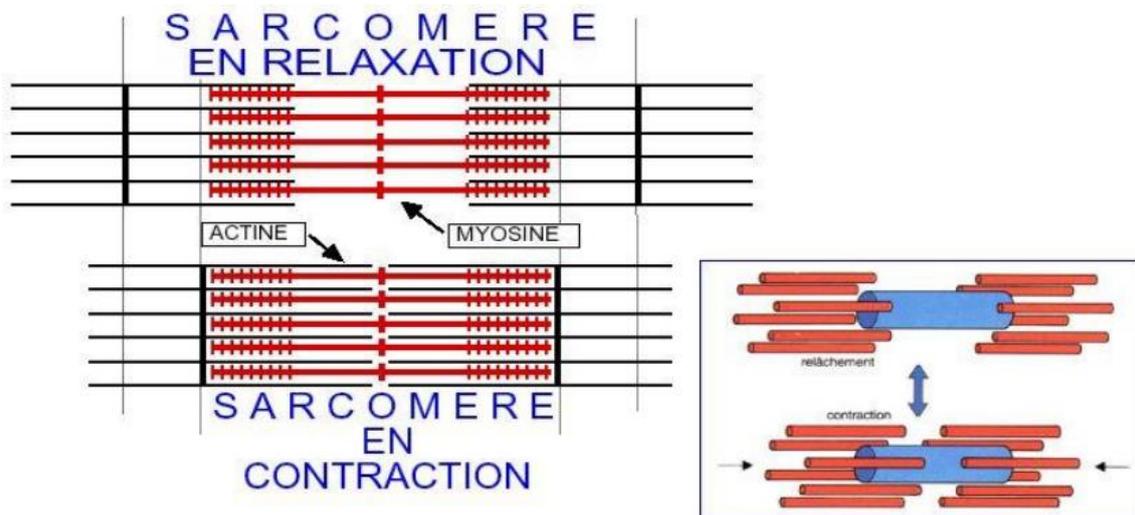


Figure 4: Schéma de la contraction musculaire (Boutouja, 2009)

1.5 Types de fibres musculaires

Les fibres musculaires sont généralement caractérisées par leurs propriétés contractiles et métaboliques. Les caractéristiques contractiles dépendent principalement des isoformes de chaînes lourdes de myosine (MyHC) présentes au sein des filaments épais (Listrat et al., 2015). Il existe quatre types de fibres musculaires : les fibres I, IIa, IIx et IIb. Elles peuvent être identifiées sur des coupes histologiques par immuno-histochimie (Figure 05).

Brièvement, les fibres de type I, à vitesse de contraction lente, possèdent une faible activité ATPasique et une activité glycolytique moins élevée que celle des fibres à contraction rapide. La vitesse de contraction des fibres rapides est trois fois plus grande que dans les fibres lentes. Les fibres rapides de type IIa et IIx présentent une vitesse de contraction similaire, mais plus

lente que celle des fibres de type IIB. Les fibres de type I sont plus riches en myoglobine et en mitochondries, ce qui va de pair avec une capacité aérobie augmentée et donc un métabolisme oxydatif prépondérant. De plus, les fibres de type I sont plus riches en lipides et présentent un plus faible taux de glycogène et de glucose que les fibresII(Jurie et Listrat,2010).

Un résumé des propriétés des différents types de fibres dans le muscle de mammifère est présenté dans le Tableau 01.

Tableau 1:Caractéristiques principales des quatre types de fibres musculaires * d'après Lefaucheur (2010).

	I	IIa	IIx	IIb
Vitesse de contraction	+	+++	++++	+++++
ATPase myofibrillaire	+	+++	++++	+++++
Seuil d'excitation	+	+++	++++	+++++
Résistance à la fatigue	+++++	++++	++	+
Métabolisme oxydatif	+++++	++++, +++++	+, ++	+
Métabolisme glycolytique	+	++++	++++	+++++
Phosphocréatine	+	+++++	+++++	+++++
Glycogène	+	+++++	++++	+++++
Triglycérides	+++++	++	+	+
Phospholipides	+++++	++++	+++	+
Vascularisation	+++++	++++	++	+
Myoglobine	+++++	+++	+, ++	+
Pouvoir tampon	+	++++	+++++	+++++
Épaisseur strie Z	+++++	+++	+++	+
Diamètre	++	+, ++	++++	+++++

* : + : très faible ; ++ : faible ; +++ : moyen ; ++++ : élevé ; +++++ : très élevé.

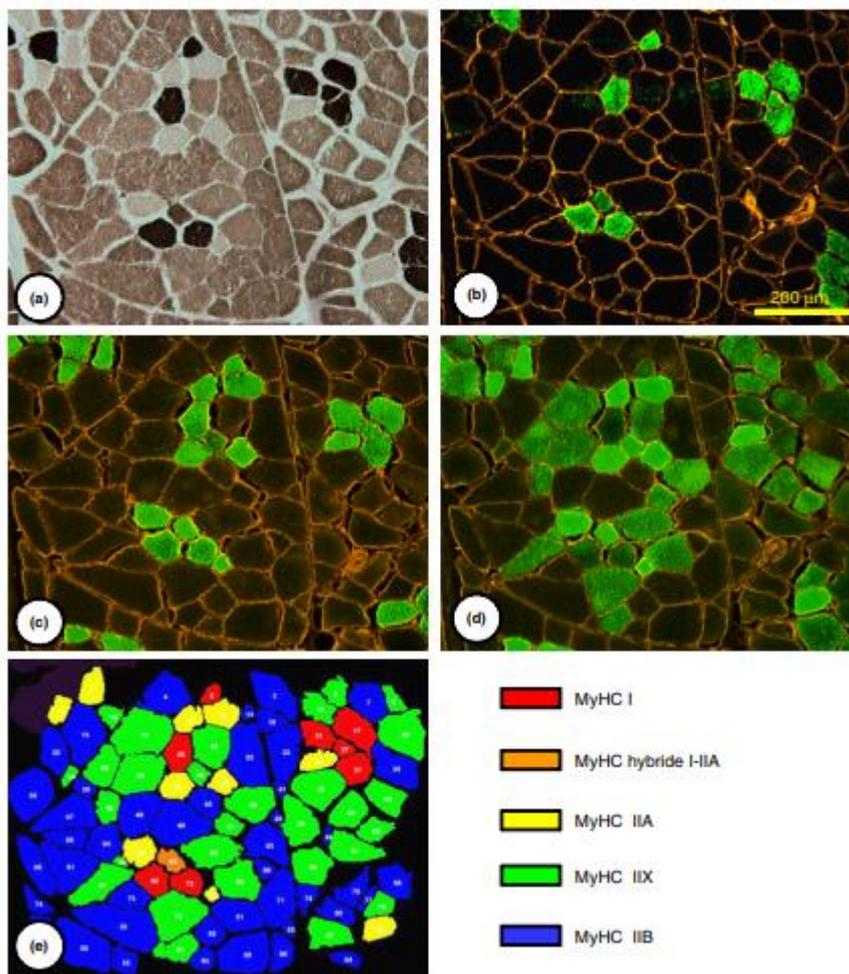


Figure 5: Identification immuno-histologique des fibres (Astruc, 2014)

- (a) Activité ATPase après incubation à pH 4.45 ; (b, c, d) Immunohistofluorescence par la double coloration de la laminine (orange) et des myosines (vert). (b) Anticorps BAD5 reconnaissant et colorant l'isoforme MyHC-I. (c) Anticorps BF35 reconnaissant et colorant les isoformes de myosines MyHC-I + MyHC-IIa. (d) Anticorps SC71 reconnaissant et colorant les fibres MyHC-Iia (intense) et MyHC-IIx. (e) Image synthétique obtenue en combinant les coupes de chaque anticorps des images b, c et d.

1.6 Composition chimique de la viande

La viande de ruminant, notamment celle du bœuf est d'une excellente valeur nutritive (acides aminés indispensables, oligo-éléments, vitamines et lipides) (Smulders et al., 2014). La viande est essentiellement composée d'eau (environ 74 %), de protéines (environ 19%), de faible quantité de lipides (1 – 6%) et de glucides (1%) (Figure 06).

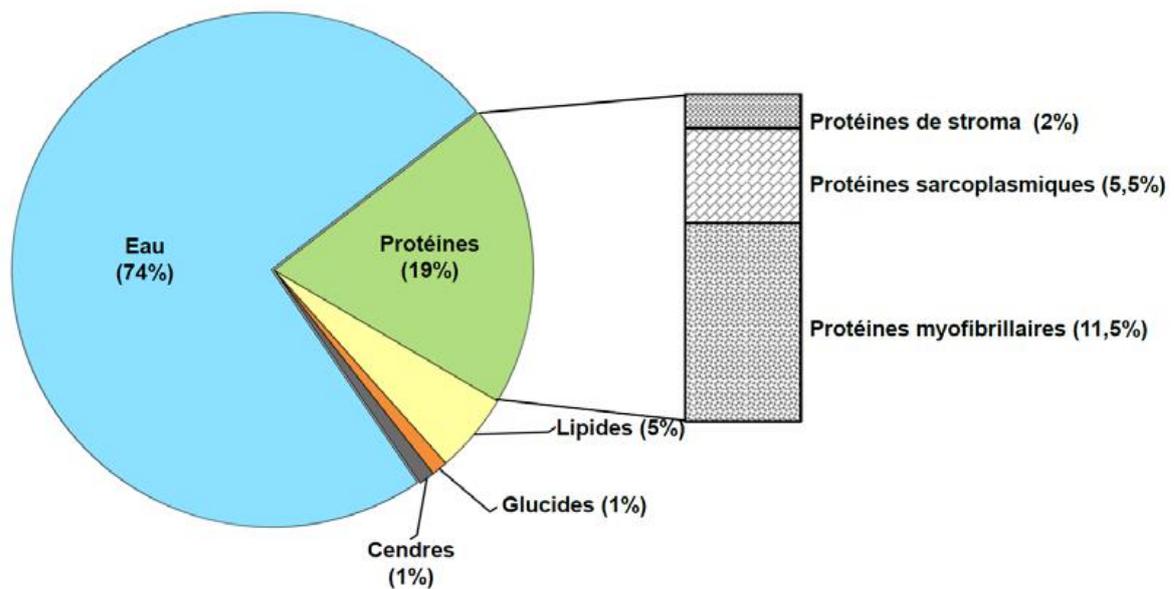


Figure 6: Composition chimique de la viande

1.6.1 Eau

L'eau est le composant le plus abondant dans le tissu de la viande et constitue environ 75% de la viande maigre (Huff-Lonergan et Lonergan, 2005). La plus grande partie de l'eau (environ 85 %) est retenue par les myofibrilles (intramyofibrillaire), et le reste (15 %) se trouve souvent dans l'espace extérieur des myofibrilles, c'est-à-dire entre les myofibrilles, entre les fibres musculaires et entre les faisceaux de fibres musculaires (Offer et Cousins, 1992). L'eau du muscle s'y trouve sous diverses formes : eau liée à des protéines, eau immobilisée, et eau sous une forme libre qui sont réparties respectivement entre 1-4%, 85-96% et 2-10% de la quantité totale d'eau (Bertram et al., 2001).

L'eau liée est fermement fixée par des liaisons hydrogène aux groupements fonctionnels hydrophiles des protéines du muscle (Touratier, 1992). L'eau liée est très résistante à la congélation, par exemple, elle n'est pas facilement congelable même à des températures inférieures à -40 °C (Aktas et al., 1997 ; Pham, 1987). Les autres fractions d'eau au sein de la structure musculaire, souvent appelées eau immobilisées et eau libre, sont facilement transformées en cristaux de glace pendant la congélation (Xanthakis et al., 2013). L'eau immobilisée ou piégée est souvent fermement maintenue dans les myofibrilles (Puolanne et Halonen, 2010). L'eau immobilisée est directement liée à la capacité de rétention d'eau de la viande, affectant ainsi les caractéristiques de qualité de la viande (Pearce et al., 2011). Cette fraction est vulnérable à la température et à la pression par exemple, La perturbation

mécanique des fibres musculaires et la dénaturation des protéines structurelles se produisant lors de la congélation entraînent la migration de l'eau piégée pour atteindre l'espace extracellulaire où une partie de celle-ci devient l'eau libre et peut être perdue sous forme d'exsudat lors de la décongélation (Huff-Lonergan et Lonergan, 2005).

1.6.2 Protéines

Les protéines constituent, après l'eau, la fraction pondérale la plus importante. Elles peuvent se ranger dans trois groupes distincts : les protéines du tissu conjonctif, les protéines myofibrillaires et les protéines sarcoplasmiques (Tornberg, 2005).

1.6.2.1 Protéines du tissu conjonctif (collagène, réticuline et élastine) :

Les protéines du tissu conjonctif (collagène, réticuline et élastine) représentent moins de 10 % du total des protéines, le collagène est la protéine majoritaire du tissu conjonctif (Sharedeh, 2015). Les protéines conjonctives sont des protéines fibreuses insolubles situées dans l'*épimysium*, le *périmysium* et l'*endomysium*. L'*endomysium* est constitué d'un fin réseau de fines fibrilles de collagène faiblement ondulées qui présentent une orientation plus ou moins aléatoire mais qui s'orientent en cas de changements morphologiques du muscle (Rowe, 1978 ; Purslow et Trotter, 1994). Le *périmysium* est constitué de fibres de collagène épaisses (5-10 µm) d'orientation bien précise et fortement ondulée (Nakamura et al., 2003). L'*épimysium* présente la même organisation que celle décrite dans le *périmysium*. Cependant, dans certains muscles les fibres de collagène regroupées en faisceaux très épais et parallèles, similaires à ceux observés dans la structure des tendons (Harries et al., 1972).

Dans la composition du collagène, trois acides aminés prennent une part assez importante : la glycine (33 %), la proline (9-10 %) et l'hydroxyproline (13-14 %) (Keeton et Eddy, 2004). L'hydroxyproline peut être considérée comme un marqueur spécifique du tissu conjonctif et son dosage permet d'évaluer la quantité de collagène au sein du muscle (Sharedeh, 2015). L'élastine, quant à elle, est une protéine également présente dans le tissu conjonctif ayant quelques similitudes avec le collagène par certaines de ses propriétés mais en est très différente par d'autres (Totland et al., 1988). Cette protéine contient environ 40% de glycine, 40% d'acides aminés hydrophobes (18% de valine) et de petites quantités de proline et d'hydroxyproline (Cobos et Díaz, 2015).

1.6.2.2 Protéines myofibrillaires

Elles sont situées dans les cellules et représentent un peu plus de 60 % des protéines totales. La protéine myofibrillaire la plus abondante est la myosine (43%) (Keeton et Eddy, 2004). La molécule de myosine est un oligomère de 1500 Å de longueur et d'un poids moléculaire d'environ 500 kDa et se compose de deux chaînes lourdes de 200 kDa chacune et de 4 chaînes légères de 14 à 20 kDa chacune (Cobos et Díaz, 2015). Ces chaînes protéiques forment deux parties : la queue principalement hélicoïdale et deux têtes globulaires. Ces têtes ont une activité enzymatique (ATPase): elles peuvent hydrolyser l'ATP lors de la contraction musculaire et fournir de l'énergie à la myosine liée à l'actine pour pivoter et tirer les fins filaments vers le centre du sarcomère (Huff Lonergan et al.2010).

L'actine est le principal composant structurel du filament fin et forme 22% des protéines myofibrillaires avec un poids moléculaire de 42 kDa (Keeton et Eddy, 2004). Elle peut se lier à des ions bivalents comme le Ca^{2+} et Mg^{2+} , à un ATP ou ADP ainsi qu'à une molécule de myosine. L'actine se présente sous la forme de longs polymères filamenteux (actine F) faits de deux colonnes de monomères d'actine globulaire (actine G), enroulées l'une sur l'autre et formant une double hélice sur laquelle se logent des molécules de tropomyosine et des complexe de troponine (Yates et Greaser, 1983). Ces myofilaments sont fixés deux par deux par leur extrémité caudale sur les stries Z (Cobos et Díaz, 2015).

La troponine et la tropomyosine sont deux protéines régulatrices qui représentent environ 10% des protéines myofibrillaires et se localisent sur le filament fin (Keeton et Eddy, 2004). La tropomyosine est une longue protéine fibreuse formée de deux chaînes hélicoïdales α et β brins enroulés l'une autour de l'autre avec une masse moléculaire d'environ 66 kDa. La tropomyosine recouvre les sites de liaison de la myosine sur la F-actine lorsque le muscle est dans un état de repos (Kerth, 2013).

La troponine est une complexe molécule fait de trois sous-unités : la troponine T qui s'attache vigoureusement à la trpomyosine, a troponine C qui fixent les ions calcium avec une forte affinité et la troponine I, facteur inhibant l'activité du complexe acto-myosine au repos (Kerth, 2013).

1.6.2.3 Protéines sarcoplasmiques

Elles se localisent dans le sarcoplasme des cellules et représentent environ 30 % du total (Keeton et Eddy 2004). Elles comprennent plus de 100 protéines. Il s'agit d'un ensemble

hétérogène de protéines regroupant les enzymes qui se répartissent dans quatre classes : la classe nucléaire (nucléoprotéines, lipoprotéines), la classe mitochondriale (lipoprotéines, mitochondries, peroxyosomes, lysosomes), la classe microsomale (microsomes, réticulum sarcoplasmique, ribosomes) et la classe cytoplasmique (enzymes de la glycolyse, enzymes protéolytiques, myoglobine, hémoglobine)(Cheret, 2005).

1.6.3 Lipides

Les lipides du muscle sont majoritairement des lipides de structure (les phospholipides) et des lipides de réserve (les triglycérides et le cholestérol) (Listrat et al., 2015).

La quantité de phospholipides totaux dans le muscle reste relativement inchangée (3,5–6,0 mg / g)(Keeton et Eddy, 2004).Les phospholipides les plus couramment trouvés dans les tissus musculaires sont Ces PL sont 45 à 60 % de phosphatidyl choline, 20 à 30 % de phosphatidyléthanolamine, 2 à 4 % de cardiolipides, 4 à 10 % de phosphatidylinositol - sphingomyéline et phosphatidyl serine (moins de 2 %) (Willian, 2013). Ces phospholipides sont principalement constitués d'acides gras polyinsaturés et notamment d'acides gras polyinsaturés à longues chaînes (20 atomes de carbone et plus) spécifiques des membranes cellulaires(Gondret et Hocquette, 2006).

Le taux de cholestérol varie très peu dans les muscles (Evrat-Goergel, 2005). La teneur en cholestérol de la viande est d'environ 50 à 70 mg / 100 g (Leth et Ertbjerg 2004).Le cholestérol dans la viande existe sous forme de cholestérol libre et d'ester de cholestérol.

Les triglycérides constituant la fraction la plus variable de la teneur en lipides intramusculaires (Gondret et Hocquette, 2006). Au niveau cellulaire, les triglycérides sont stockés pour une part mineure (5-20 %) dans les fibres musculaires et pour leur plus grande part, dans des cellules spécialisées (les adipocytes) qui se développent le long des faisceaux de fibres de l'ordre de 80 % des lipides totaux (Essen-Gustavsson et al., 1994 ; Gondret et al 1998).

1.6.4 Minéraux et vitamines

La viande de ruminants, en particulier de bovins, est également une source de fer contenant en moyenne 2,2 mg de fer pour 100 g (Tableau 02) (Soucheyre, 2008). Le fer pouvant se présenter sous deux formes : le fer hémique et le fer non hémique. La biodisponibilité du

fer héminique est très élevée : 20 à 30 % sont absorbés par voie digestive alors que seulement 1 à 10 % du fer non héminique sont absorbés (Sharp et Srai, 2007).

La viande bovine est également riche en zinc (4,1 mg/100 g de zinc), qui est impliqué dans de nombreuses réactions enzymatiques, notamment la synthèse des protéines (Rock, 2002; Lebret et Picard, 2015). En revanche, la moitié du sélénium de l'organisme est stockée dans les cellules musculaires, ce qui explique l'intérêt de la viande pour sa teneur en sélénium. Les principales formes de sélénium dans la viande sont la séléno-méthionine et la séléno-cystéine. La fonction biologique du sélénium est liée à l'action de sélénoprotéines telles que la glutathion peroxydase impliquées dans les phénomènes antioxydants (Rock, 2002).

Outre les oligo-éléments, la viande apporte des vitamines hydrosolubles du groupe B (B3, B6 et B12). Ils sont impliqués dans de nombreux processus biologiques et voies métaboliques, et ils sont intégrés à des coenzymes. En particulier, la vitamine B12, exclusivement d'origine animale, est impliquée dans la synthèse de l'ADN, la formation des cellules nerveuses et des globules rouges (Lebret et Picard, 2015).

Tableau 2: Composition de 100 g de tissu musculaire bovin (Souci et al., 2008).

Composants	Unité	Moyenne	Variation
Macroéléments			
Eau	g	74,1	-
Protéines	g	22,0	20,6 - 22,7
Matières grasses	g	1,90	1,55 - 3,00
Microéléments			
Minéraux	mg	1,23	1,20 - 1,27
Sodium	mg	66	58 - 66
Potassium	mg	358	355 - 426
Magnésium	mg	23	21 - 23
Calcium	mg	5,7	4,0 - 5,9
Manganèse	µg	17	9,3 - 20
Fer	mg	2,2	1,7 - 2,3
Cobalt	µg	143	100 - 273
Cuivre	µg	87	70 - 120
Zinc	mg	4,3	3,2 - 4,9
Nickel	µg	5,9	1,1 - 19
Chrome	µg	5,3	4,4 - 5,3
Molybdène	µg	28	10 - 45
Aluminium	µg	5,0	-
Phosphore	mg	189	-
Chlorure	mg	52	34 - 91
Fluorure	µg	2,3	4,5 - 100
Iode	µg	5,4	1,7 - 6,8
Bore	µg	45	10 - 144
Sélénium	µg	5,4	3,0 - 10
Vitamines	mg	9,6	-
Acides			
Acide lactique	mg	700	-
Acide succinique	mg	50	-
Acide glycolique	mg	100	-
Purines	mg	133	-
Phospholipides	mg	827	-

1.7 Transformation du muscle en viande

Lors de l'abattage des animaux, les muscles subissent des transformations qui contribuent aux qualités sensorielles de la viande, notamment l'attendrissement (Chriki et al., 2013). Ces transformations déterminent en grande partie la qualité finale de la viande (Valin, 1988). Cette évolution se produit en trois étapes : l'état pantelant, l'installation de la *rigor mortis* et l'état de maturation (Figure 07).

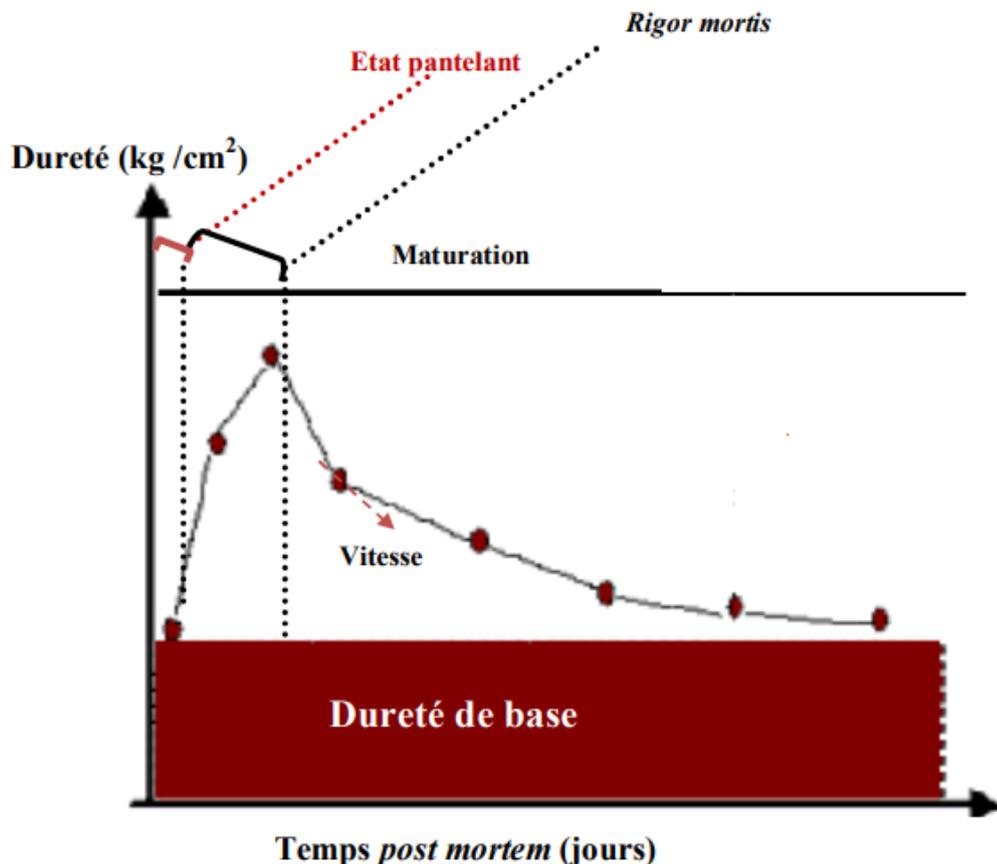


Figure 7: Phases de transformation du muscle en viande (Becila - Hioual, 2009)

1.7.1 Phase de pantelance

L'état de pantelant est une phase qui survient immédiatement après l'abattage et dure environ 30 minutes (bœuf), après l'abattage, pendant laquelle les muscles maintiennent leur état contracté, vraisemblablement dû à des excitations causées par une excitation nerveuse (Ouali, 1992). En conséquence, la source d'énergie du muscle, l'adénosine triphosphate (ATP) résiduelle, est épuisée et une glycolyse anaérobie s'établit. Par conséquent, l'accumulation d'acide lactique fait chuter le pH de 7 à 5,5 (Coibion, 2008).

1.7.2 Phase de rigidité cadavérique ou *rigormortis*

Après la mort de l'animal, il se produit des réactions provoquant la rigidité cadavérique ou *rigormortis*. La rigidité cadavérique est la réaction qui se fait après l'abattage entre l'actine et la myosine (Figure 07). L'arrêt de la circulation sanguine prive le muscle de l'apport d'oxygène et la glycolyse anaérobie s'installe (Monin, 2003).

Le glycogène n'est alors plus utilisé pour son énergie, mais est hydrolysé en acide lactique, ce qui baisse le pH de la viande. L'abaissement du pH et la formation de l'actomyosine provoquent l'agrégation des protéines musculaires (Ouali, 1992). L'état de contraction musculaire de la fibre musculaire décroît et arrive finalement à l'état de rigidité cadavérique. Par la suite, grâce à diverses réactions biochimiques qui se produisent au cours de la maturation, les muscles progressent vers l'attendrissement (Ouali, 1992).

1.7.3 Phase de maturation

La maturation de la viande est une réaction complexe dans laquelle interviennent des enzymes intracellulaires (Schreurs, 2000). La conséquence de cette réaction est le détachement de l'actine dans les myofibrilles de la strie Z, ce qui a pour conséquence d'attendrir la viande (Ouali et al., 1992).

Des réactions chimiques ont également lieu au niveau des graisses : sous l'influence des lipases, les lipides se transforment, donnant l'odeur et la saveur caractéristiques de la viande (Guillemin et al., 2009). Cependant, si la viande est maturée trop longtemps, cette graisse peut se détériorer et former par la suite des composés dégageant une odeur et un goût rances (Ouali et al., 2006). Au cours du processus de maturation, seuls les protéines et les lipides de la viande sont transformés. Le collagène est non modifié et caractérise la fermeté basale de la viande (Guillemin et al., 2009). La tendreté s'accroît donc au cours de la conservation de même que sa saveur et sa succulence (Taylor et al., 1995).

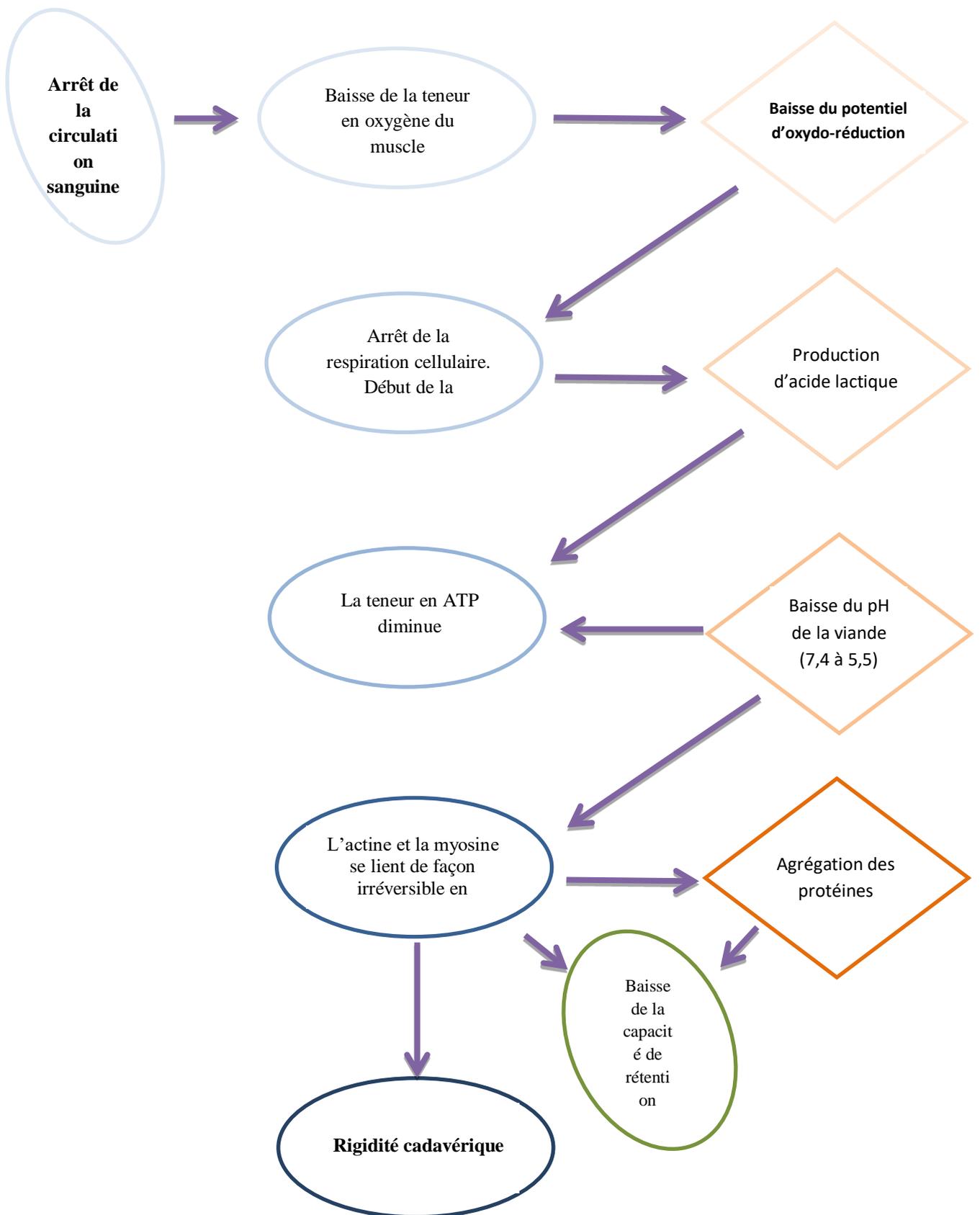


Figure 8: Réaction dans le muscle après la mort et apparition de la rigidité cadavérique (Bazinet et Casteigne, 2011).

1.8 Les qualités de la viande

La qualité se définit comme « l'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un service ou d'un produit qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites » (ISO, 1994). Il n'a donc pas « une » qualité mais « des » qualités.

L'évaluation de la qualité de la viande comprend également des aspects nutritionnels (teneurs en nutriments), organoleptiques (sensorielle), technologiques et sécuritaires (caractéristiques microbiologiques ou toxicologiques) (Figure 09).

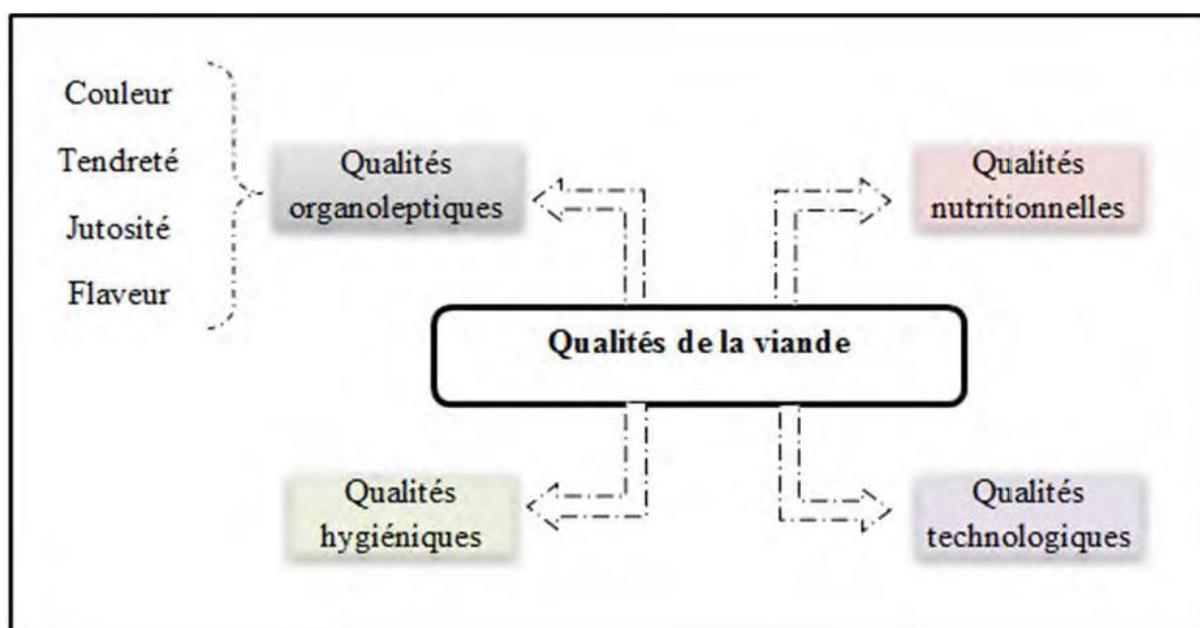


Figure 9: Qualités de la viande (Boudechicha, 2014)

La viande, en tant qu'aliment, est considérée comme une source idéale de nutriments en raison de sa teneur considérable en protéines à haute valeur biologique, en acides gras essentiels n-3, en vitamines B ou en éléments minéraux tels que le fer, le zinc ou le phosphore (De Smet et Vossen, 2016).

Concernant les Caractéristiques sensorielles, la couleur est le premier critère d'appréciation de la viande par le consommateur au moment de l'achat, étant associée au degré de fraîcheur de la viande (Calnan et al., 2016). Le principal pigment responsable de la couleur de la viande est la myoglobine constituée d'un groupement hémique : l'hème (atome de fer associé à la protoporphyrine) et d'une protéine : la globine (Touraille, 1994). La couleur de la viande est

principalement liée aux trois paramètres principaux : la saturation, la teinte et la luminosité. La saturation dépend de la quantité de pigment présent dans le muscle, la teinte varie en fonction de l'état chimique du pigment (figure 6) et la luminosité, elle est liée à l'état de surface de la viande dépendant du pH (Touraille, 1994).

La tendreté d'une viande est quelque chose de perçue lors de sa consommation, se traduit la facilité avec laquelle les fibres musculaires sont coupées, déchirées, broyées pendant la mastication et elle affecte l'acceptation de la viande lors de la consommation (Craplet, 1966). La tendreté mesure donc la facilité avec laquelle une viande se laisse couper. Beaucoup de consommateurs classent ce paramètre en premier lieu parmi les facteurs qui déterminent la qualité de la viande (Biswas et Mandal, 2019).

La jutosité de la viande cuite présente deux composants organoleptiques : Le premier est l'impression d'humidité durant les premières mastications : celle-ci est produite par la libération rapide de fluide par la viande. Le deuxième est la jutosité soutenue liée à l'effet stimulant de la graisse sur la salivation (Clinquart et al., 2000).

L'acceptabilité de la viande pendant la consommation est également affectée par le goût. La flaveur de la viande est déterminée par la composition chimique et les changements apportés à cette dernière lors de la cuisson (Monin, 1991). De nombreux composants aromatiques volatils sont produits lors de la cuisson par dégradation ou oxydation des lipides, dégradation thermique et interactions entre protéines, peptides, acides aminés et sucres qui contribuent majoritairement dans la flaveur de la viande (Troy et Kerry, 2010).

La sécurité sanitaire de la viande est l'une des principales préoccupations lors de sa consommation (Sofos, 2008). Les principaux problèmes liés à la sécurité sont la présence de contaminants chimiques (résidus d'antibiotiques, métaux lourds, etc.) et d'agents pathogènes microbiens et/ou ses toxines (bactéries telles que *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni/coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* ou parasites tels que *Toxoplasma*, *Trichinella*, cestodes, etc.) (Lehotay et al., 2005 ; Nørnung et al., 2009).

La qualité technologique de la viande est d'un intérêt majeur pour l'industrie de la viande, où, d'une part, une viande avec un pH adéquat et de bonnes propriétés fonctionnelles de ses protéines est valorisée, ce qui garantit une capacité élevée de rétention d'eau, d'émulsion et de gélification et, d'autre part, une viande avec une bonne stabilité de la graisse et de la couleur pendant le traitement et le stockage, empêchant la perte de graisse, l'oxydation et décoloration (Cheng et Sun, 2008 ; Muchenje et al., 2009).

Les aspects susmentionnés de la qualité de la viande sont liés à des facteurs de production animale tels que l'alimentation, la génétique (Biswas et Mandal, 2019 ; Calnan et al., 2016. D'autre part, les qualités de la viande sont influencées par les conditions de transformation, de conditionnement et de stockage (Moschopoulou et al., 2019,El- rammouz, 2005).

2 CONGÉLATION

La congélation est l'une des procédés le plus répandu de nos jours pour la préservation dans le temps de la qualité de la viande et d'autres produits alimentaires (Anese et al., 2012). Ce procédé consiste à réduire la température d'un produit en dessous de la température de formation des premiers cristaux de glace c'est-à-dire, la cristallisation d'au moins une partie de l'eau sous forme de glace (Li et al., 2018). En effet, la réduction de la température conduit à un ralentissement des cinétiques de nombreuses réactions biochimiques conduisant à l'altération de l'aliment aussi bien la diminution de l'activité de l'eau associée au changement d'état de l'eau qui est au cœur du procédé congélation inhibe la croissance microbienne (Kiani et Sun, 2011).

Selon JORADP (2009), La température en tout point du produit congelé doit être maintenue à une valeur inférieure ou égale à -18°C jusqu'à l'utilisation du produit par le consommateur. Alors que la technique de surgélation utilisée par l'industrie agroalimentaire repose sur des températures d'exposition allant de -35°C à -196°C (Parniakov, 2017).

2.1 Processus de congélation

La congélation de la viande comprend généralement trois étapes distinctes (Figure 10):

2.1.1 Première phase dite pré-refroidissement

Correspond à la diminution plus ou moins rapide de la température de la viande, jusqu'au voisinage du point de congélation commençante. Pendant cette phase, l'eau reste sous forme liquide.

2.1.2 Deuxième phase dite phase de transition

Une fois la température de congélation commençante est atteinte, un changement d'état de l'eau qui passe de l'état liquide à l'état solide. Pendant toute cette période, la chaleur latente de changement d'état est absorbée. Une croute de glace se forme au niveau des couches superficielles du produit.

2.1.3 Troisième phase dit solidification :

C'est l'étape finale ou le produit continu à refroidir jusqu'à atteindre la température finale souhaitée pour l'entreposage congelé (Kiani et Sun, 2011 ; Tan et al., 2021).

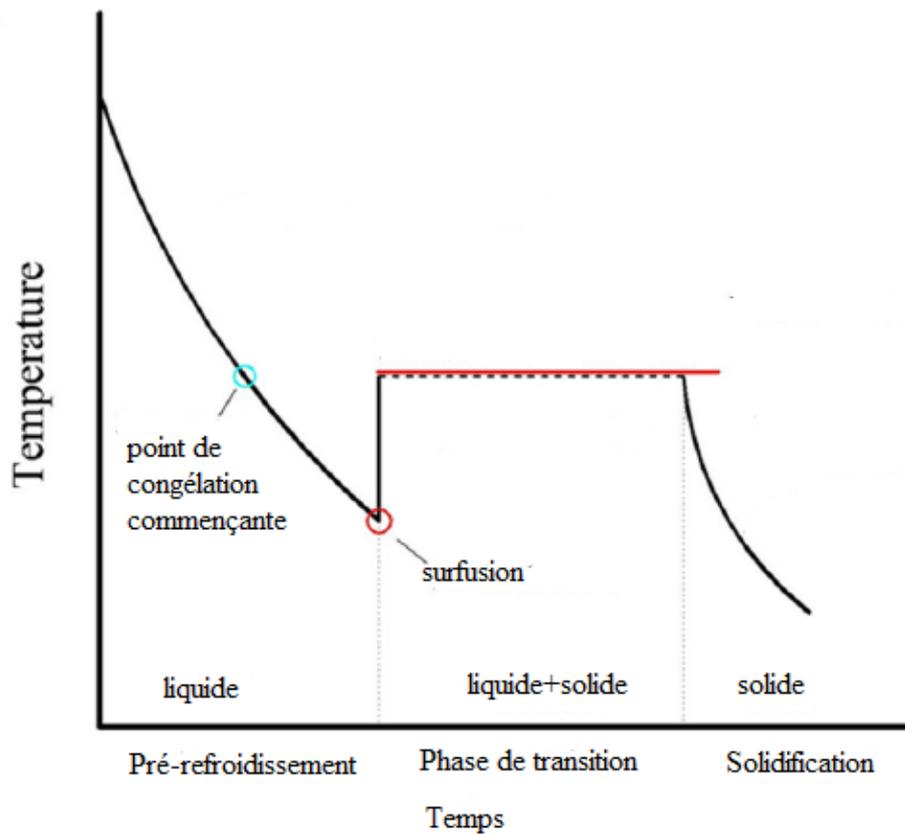


Figure 10: Courbe de congélation (Tan et al., 2021)

2.2 La formation des cristaux de glace

L'existence d'un cristal de glace stable est précédée par l'apparition d'un nucleus à partir duquel le cristal pourra se développer (Russo Krauss et al., 2013). Le processus de production de ces nucléus s'appelle la nucléation (Kiani et Sun, 2011).

La nucléation fait référence au processus par lequel une quantité adéquate de molécules d'eau s'associe pour former un agrégat thermodynamiquement stable, appelé un nucleus, qui fournit des surfaces adaptées à la croissance cristalline (Dalvi-Isfahan et al., 2017). Si les nucleus sont formés par un agrégat de molécules du liquide refroidi, la nucléation est dite homogène ou spontanée. Si les germes sont formés par des particules étrangères, la nucléation est dite hétérogène (Kashchiev, 2020). La nucléation spontanée de la glace se produit à des températures de l'ordre de $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. La nucléation hétérogène peut se produire à des températures plus élevées mais inférieures à zéro (Flores Mellado, 1998).

Une fois qu'une structure cristalline s'est formée, une rupture soudaine de la structure peut générer de nouveaux germes à partir des cristaux existants. Ce phénomène est appelé une nucléation secondaire (Flores Mellado, 1998).

Il faut noter que le point de congélation initial (nucléation) entre les espaces intra et extracellulaire est différent dans le tissu de la viande ou la nucléation pendant la congélation du muscle commence généralement dans la zone extracellulaire (Zhang et Ertbjerg, 2019).

Dans une recherche publiée en 1986, Hamm et ses collaborateurs ont conclu que la formation des cristaux de glace extracellulaires commence à environ $-1,2\text{ }^{\circ}\text{C}$, mais qu'une température de congélation plus basse d'environ $-1,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ est nécessaire pour la formation de glace intracellulaire. Cet effet est probablement lié à l'existence d'une concentration de soluté plus élevée à l'intérieur de la fibre musculaire qu'à l'extérieur (Zhu et al., 2019).

2.3 Température de congélation des aliments

La présence des solutés dans les échantillons alimentaires peut modifier de façon substantielle la température de cristallisation de l'eau qu'ils contiennent, lui faisant prendre une valeur inférieure à celle de l'eau pure (Tan et al., 2021). En général, la déviation de température de la cristallisation par rapport à celle de l'eau pure dépend du type de solutés présents (leur poids moléculaire) et de leur concentration (Tan et al., 2021).

La figure 11 représente les évolutions de la température de l'eau pure et d'un échantillon alimentaire au cours de leur congélation. Dans le cas de l'eau pure, après surfusion, la formation de cristaux de glace intervient et libère de la chaleur. la température remonte à 0°C et reste constante pendant toute la durée de la cristallisation. Lorsque toute l'eau est transformée en glace, l'abaissement de la température reprend à une allure plus rapide qu'au début (Jeantet et al., 2006).

Dans le cas d'une solution aqueuse (aliment), la température de début de congélation est inférieure à celle de l'eau pure. Ce phénomène, appelé abaissement cryoscopique, est dû à la présence de substances dissoutes et aux interactions existantes entre les différents constituants et l'eau de la solution considérée (Tremeac, 2004). L'amplitude de l'abaissement cryoscopique dépend de la nature de la solution et est inversement proportionnelle à la fraction molaire de l'eau dans la solution. Au cours de la cristallisation de l'eau, la température de congélation décroît progressivement du fait de l'augmentation de la concentration des solutés dans la phase liquide résiduelle (Heldman et Singh, 1981). En outre, une congélation lente conduit à la formation de cristaux de glace très purs, ce qui induit une cryoconcentration des solutés dans les espaces liquides résiduels plus élevée que lors de la congélation rapide.

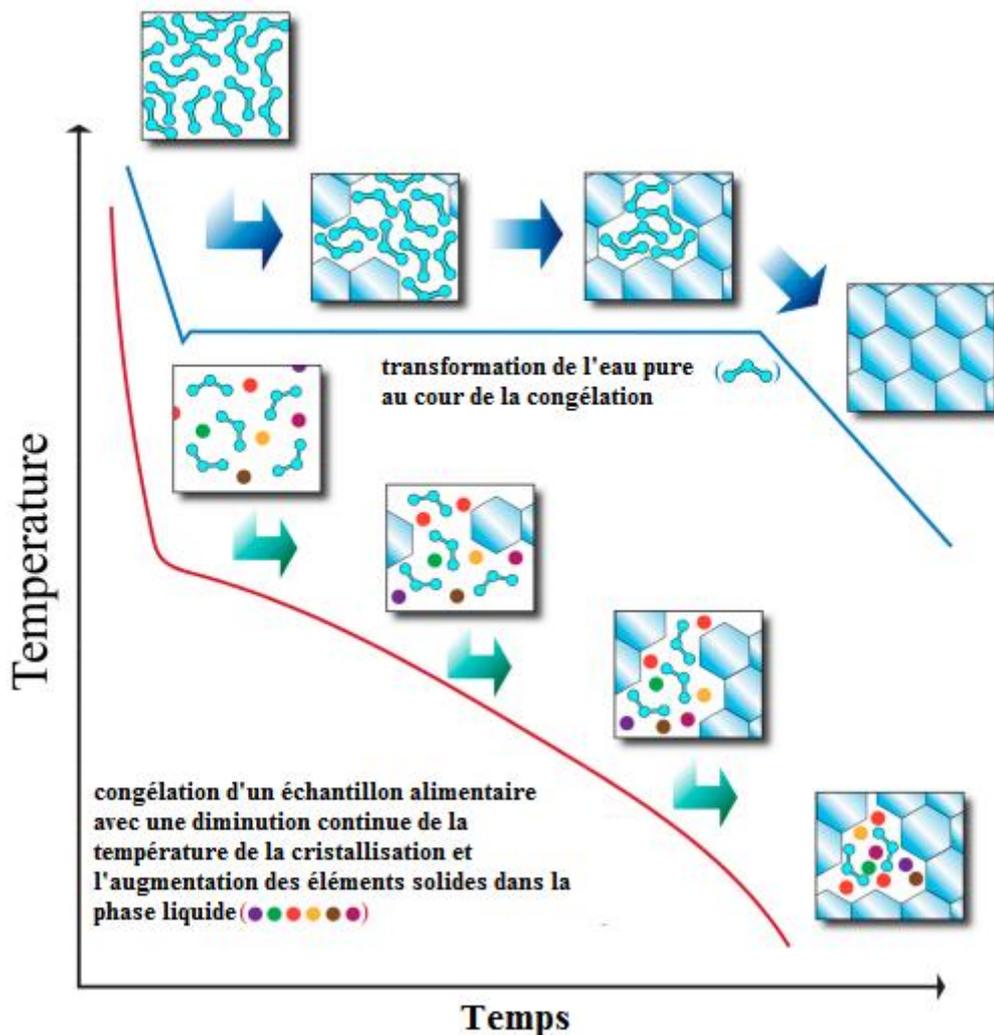


Figure 11: Courbes de congélation de l'eau pure et d'un échantillon alimentaire (Dang et al., 2021).

À la température habituelle d'entreposage des aliments congelés ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$), une partie non négligeable de l'eau congelable est encore à l'état liquide (2 à 15 %) et possède des propriétés de solvants et de réactifs (Figure 12). Certaines réactions de détérioration peuvent donc se produire dans les produits congelés, du fait de la présence d'espaces liquides résiduels à concentration élevés en solutés (Jeantet et al., 2006). Par exemple, la lipoxydase qui catalyse l'oxydation des lipides joue un rôle prédominant à ce sujet dans le cas des viandes et poissons congelés (Martin, 2001).

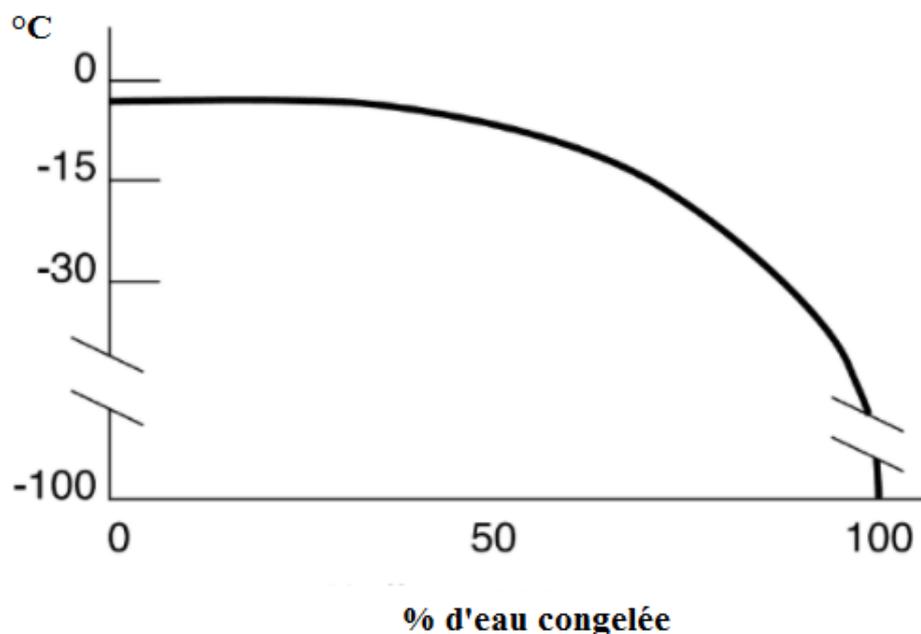


Figure 12: Proportion d'eau congelée dans un aliment en fonction de la température (Martin, 2001)

2.4 Facteurs influençant la cristallisation dans les produits alimentaires

2.4.1 Vitesse de congélation

La vitesse de congélation ($^{\circ}\text{C}/\text{h}$) d'un produit est définie comme étant le quotient de la différence entre température initiale et finale par la durée de congélation (Bogh-Sorensen, 2006). La vitesse de congélation est un facteur contribuant à la morphologie des cristaux de glace (Petzold et Aguilera, 2009 ; Kim et al., 2018). La taille, la forme et la localisation des cristaux de glace générés par la congélation de la viande sont considérées comme étant les facteurs les plus importants de la modification de la microstructure (Molina-Garcia et al., 2004 ; Ngapo et al., 1999).

Une vitesse de congélation rapide produit une vitesse de nucléation plus élevée résultant en un grand nombre de noyaux de glace, qui se transforment en cristaux dans les matrices intercellulaires et intracellulaires (Figure 13). Par la suite, de nombreux noyaux de glace sont produits, conduisant à des tailles de cristaux de glace plus petites à la fin de la congélation (Li et al., 2018). La formation de cristaux de glace plus petits provoque moins de dommages aux structures tissulaires (Petzold et Aguilera, 2009). De plus, une distribution uniforme de cristaux de glace plus petits, tant intracellulaires qu'intercellulaires, n'entraîne pratiquement

aucun dommage cellulaire et est préférable en ce qui concerne la préservation de la qualité des aliments (Zaritzky, 2000). D'autre part, une congélation lente favorise moins de nucléation et provoque un faible nombre de noyaux de glace. Des cristaux de glace de plus grande taille et en nombre limité vont se développer dans la matrice intercellulaire (Sanz et al., 1999).

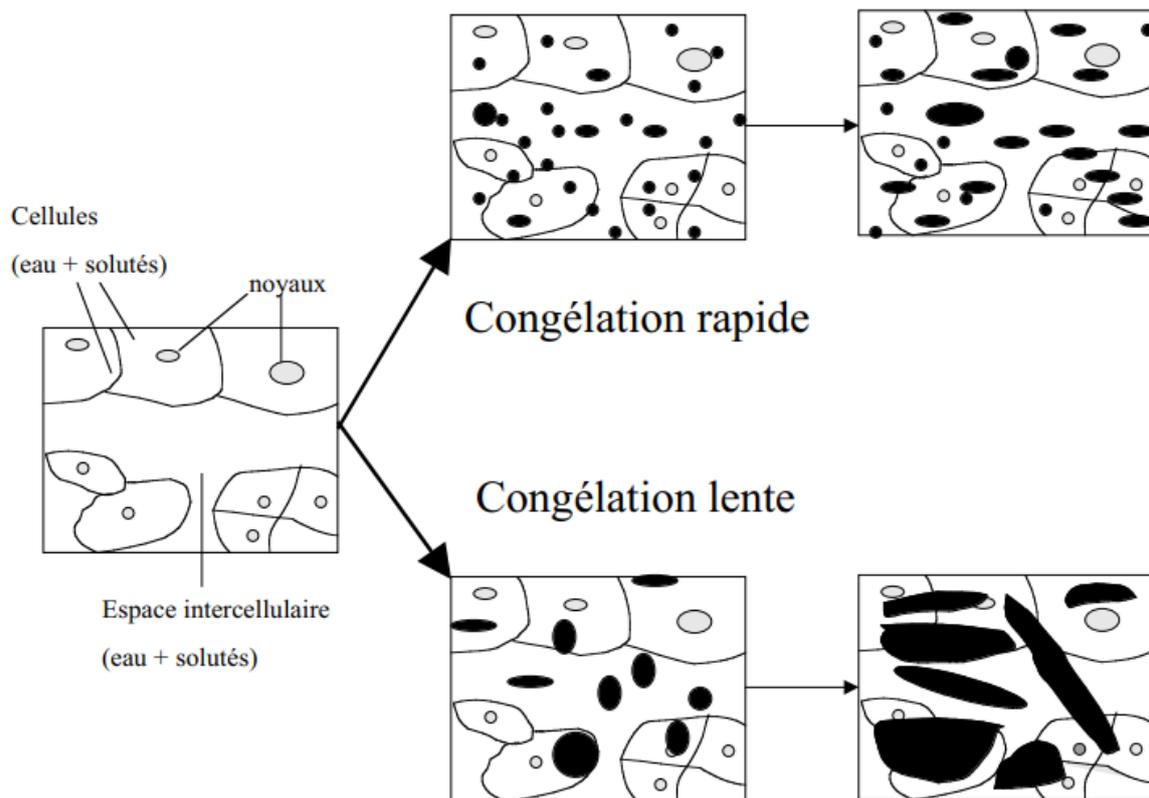


Figure 13: Représentation schématique de la formation de micro-cristaux et puis de cristaux de glace pendant la congélation (Nout et al., 2003)

Il a été également mis en évidence qu'au sein d'un même échantillon, pour divers types de produits alimentaires, la taille des cristaux varie de la surface vers le centre : ils sont plus petits à la surface et plus gros au centre en raison des différences de vitesse de congélation entre surface et cœur s'expliquant par la résistance élevée au transfert thermique de la matrice des produits alimentaires (Sanz et al., 1999).

2.4.2 Entreposage congelé

La recristallisation de la glace qui se produit pendant le stockage congelé provoque des changements dans la morphologie des cristaux de glace. Ces changements concernent la taille, le nombre et la distribution spatiale (Hartel, 1998). En effet, les gros cristaux se développent aux dépens des plus petits en raison des différences de température d'équilibre causées par les contributions d'énergie de surface (Pronk et al., 2005; Cook et Hartel, 2010). Trois mécanismes de la recristallisation sont illustrés dans la Figure 14.

Accrétion se réfère à la fusion des cristaux de glace dans les zones adjacentes pour former un cristal plus grand, qui se produit principalement dans le stade précoce de la recristallisation. Cependant, la migration est la croissance de gros cristaux aux dépens des petits cristaux (Zhu et al., 2019). L'eau générée par la fonte des petits cristaux de glace s'écoule vers les plus gros et recristallise, provoquant finalement la disparition de petits cristaux de glace (Donhowe et Hartel, 1996). Lors de la recristallisation de l'iso-masse de surface, la surface du cristal deviendra plus lisse et plus arrondi résultant d'une réorganisation de la structure interne sans changement de masse globale (Ndoye et al., 2015).

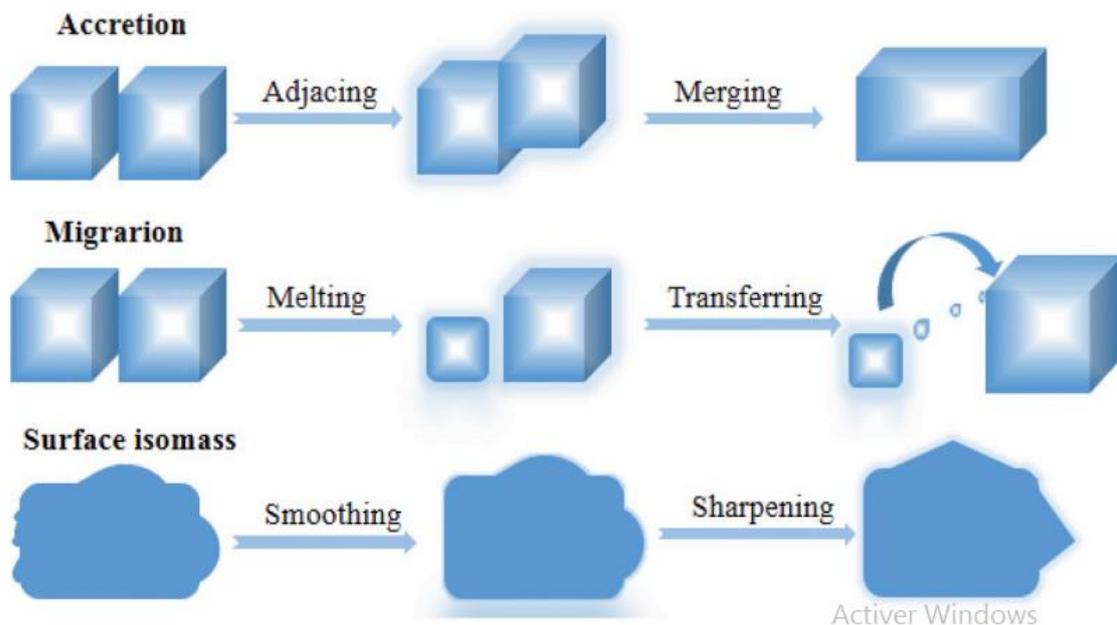


Figure 14: Mécanismes de recristallisation (Zhu et al., 2019).

2.5 Procédés de congélation

Il existe divers procédés de congélation qui sont utilisés dans la congélation des produits alimentaires: congélation par courant d'air froid, congélation par contact et congélation par immersion, qui peuvent être classés en deux grandes catégories : les congélateurs où la production de froid est mécanique et les congélateurs cryogéniques qui utilisent un « gaz liquide » comme l'azote ou le gaz carbonique (George, 1997).

2.5.1 Congélateurs où la production de froid est mécanique

2.5.1.1 Congélateurs à air

Ce type de congélation est la plus couramment utilisé dans la congélation commerciale de produits alimentaires, car elle est économique, hygiénique et conviviale pour l'équipement. L'idée opérationnelle de ce système de congélation est qu'un ventilateur aspire de l'air et le refroidit à travers un serpentin réfrigéré (évaporateur) avant de le souffler sur le produit à une vitesse de 1 à 5 m/s pour les applications industrielles. La température de l'air dans ces appareils est comprise entre $-25 < T < -40$ °C (Bazinet et Castaigne, 2011).

Le tunnel à convoyeur linéaire et le tunnel à spirale sont deux types de congélateurs à air pulsé qui ont été conçus. Le temps de refroidissement est le facteur qui définit la longueur du tunnel (George, 1997). Les tunnels à convoyeur linéaire sont progressivement supprimés dans les industries au profit des congélateurs à spirale en raison des contraintes d'espace (Bazinet et Castaigne, 2011). La congélation à air pulsé, d'autre part, entraîne des temps de congélation lents, ce qui conduit au développement de gros cristaux de glace, diminuant la qualité du produit (Magnussen et al., 2008).

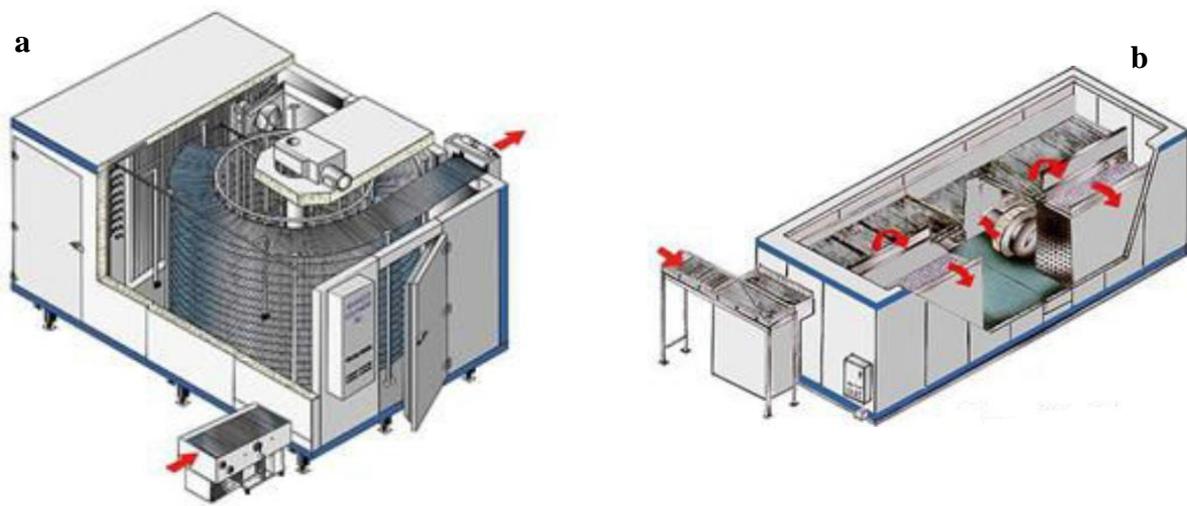


Figure 15: (a) congélateur à air pulsé spirale, (b) congélateur à tunnel linéaire (Meziani, 2011)

Un type spécial de congélateur mécanique est le tunnel à lit fluidisé (Figure 16). Dans ces types d'appareil, l'air traverse la surface de produit de bas en haut, à travers les bandes transporteuse perforées sur lesquelles reposent les produits (Muthukumarappan et Marella, 2007). Cette méthode de congélation est applicable à des aliments dont la taille est relativement petite. Elle permet de maintenir toute la surface du produit en contact avec l'air, évitant ainsi la formation d'une masse compacte, évitant que les produits soient collés entre eux en sortie de congélateur (Mulot, 2019).

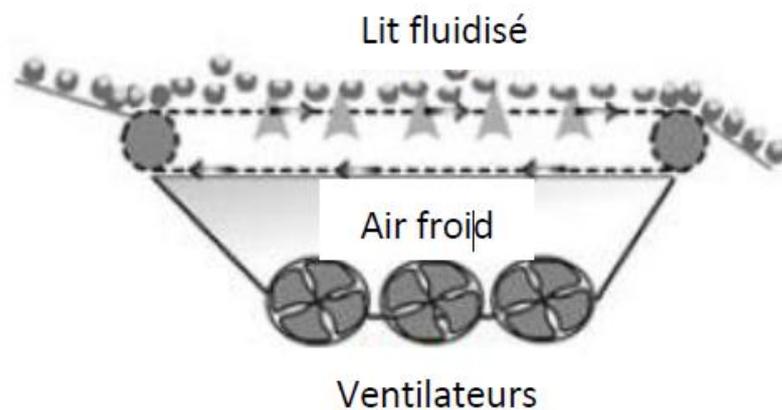


Figure 16: Congélateur à lit fluidisé (Mulot, 2019).

2.5.1.2 Congélateur par immersion

Un congélateur d'immersion (Figure 17) est constitué d'un réservoir contenant une solution à basse température (-21°C), constituée par un liquide à base du sel (CaCl_2 , NaCl), ou de sucre, ou d'alcool, ou de mélanges entre ces différentes solutions lui-même réfrigéré par contact indirect avec un fluide réfrigérant circulant dans une machine frigorifique (Magnussen et al., 2008). Le produit a été préalablement emballé avant d'immerger dans ce liquide de refroidissement (George, 1997). La congélation par immersion est fréquemment utilisée pour de petits produits afin d'éviter une perte en eau excessive comme pour les crevettes ou pour congeler rapidement et superficiellement un produit avant de l'introduire dans un procédé à air pulsé toujours afin de limiter sa déshydratation (Lucas et al., 1998). Malgré certains avantages, rapidité, bas prix, facilité de mise en œuvre, l'immersion directe dans des solutions est peu utilisée car le principal inconvénient de cette méthode par immersion est que la concentration du liquide de refroidissement se modifie pendant le traitement, ce qui nécessite des ajustements minutieux (Magnussen et al., 2008).

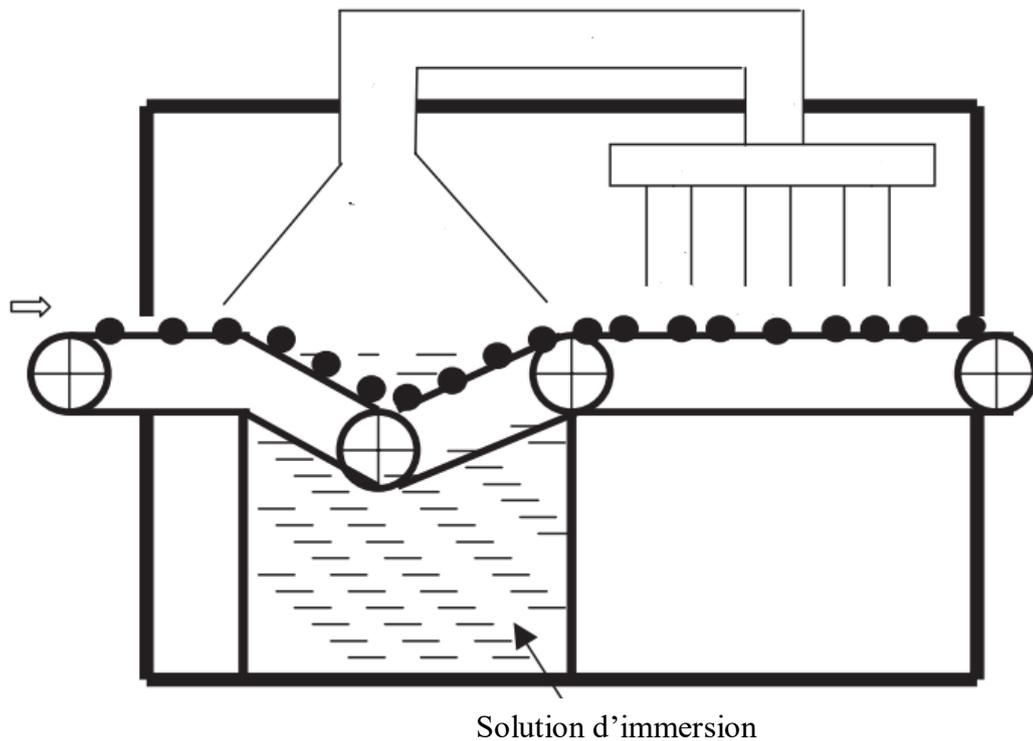


Figure 17: Congélateur par immersion (Muthukumarappan et Marella, 2007).

2.5.1.3 Congélateurs par contact avec une surface froide

Dans ce type de congélateur, l'aliment est refroidi par contact avec une surface métallique froide elle-même refroidie par un liquide frigorigène (Le Bail, 2004). On distingue:

2.5.1.3.1 Congélateur à plaques

Le produit à congeler est placé entre deux plaques de métal, disposées horizontalement ou verticalement (Figure 18). Chaque plaque est constituée de deux feuilles de métal formant une sorte de récipient parallélépipédique de très faible épaisseur, à l'intérieur duquel circule le fluide réfrigérant (Muthukumarappan et Marella, 2007). Les congélateurs à plaques sont très efficaces mais sont limités aux produits à parois minces et plates qui s'adaptent à la disposition des plaques, ils sont également appropriés pour des temps de congélation courts (North et Lovatt, 2006).

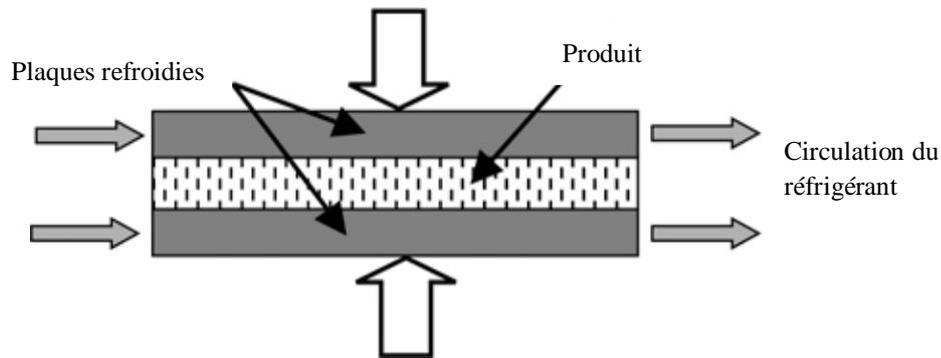


Figure 18: Principe de fonctionnement d'un congélateur à plaques (Le bail, 2004).

2.5.1.3.2 Congélateur à tambour

L'aliment, liquide ou pâteux (pouvant contenir des granules de quelques millimètres de diamètre), est pompé et distribué sur la surface froide de la bande transporteuse dans laquelle circule le fluide frigorigène (Figure 19). À la sortie de l'appareil, l'aliment congelé est détaché de la surface de la bande à l'aide d'un couteau racleur (Le bail, 2004).

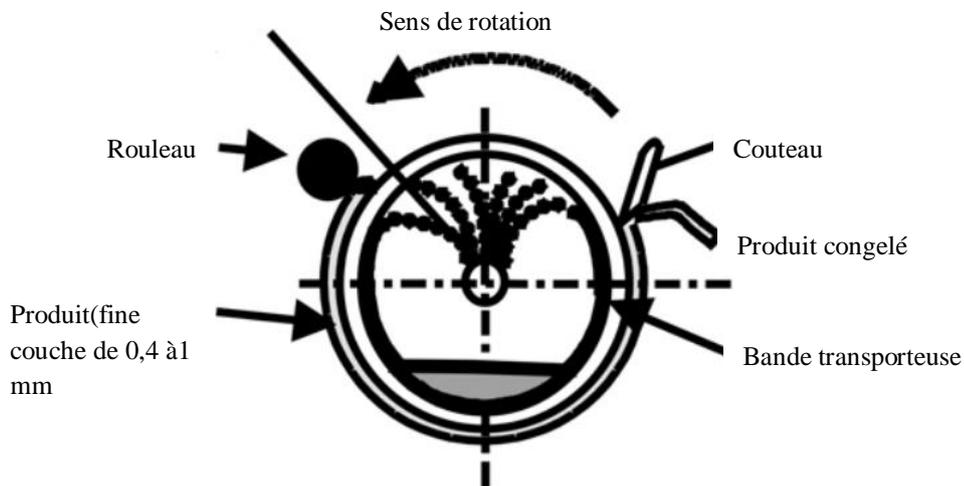


Figure 19: Principe de fonctionnement d'un congélateur à tambour (Le bail, 2004).

2.5.2 Congélation cryogénique

L'utilisation de liquides cryogéniques (essentiellement de l'azote et du CO₂) comme réfrigérants est à la base des procédés cryogéniques (Figure 20) (Le Bail, 2004). Les fluides sont injectés directement dans les congélateurs, où ils s'évaporent dans l'atmosphère et/ou au contact de l'aliment (George, 1997). Les procédures cryogéniques peuvent produire des

vitesses de congélation élevées et peuvent être utilisées sur tout type de produit. Avec l'azote liquide, la température dans le congélateur peut atteindre $-195,8^{\circ}\text{C}$, tandis qu'avec le dioxyde de carbone, elle peut atteindre $-78,5^{\circ}\text{C}$ (Magnussen et al., 2008). En plus d'une congélation rapide, ces procédés présentent une déshydratation inférieure à 2%, avantage important avec des aliments de prix élevé. De plus, il y a également peu d'exsudation lors de la décongélation. En revanche, les coûts de fonctionnement sont plus élevés que pour le froid mécanique (Persson et Lohndal, 1993).

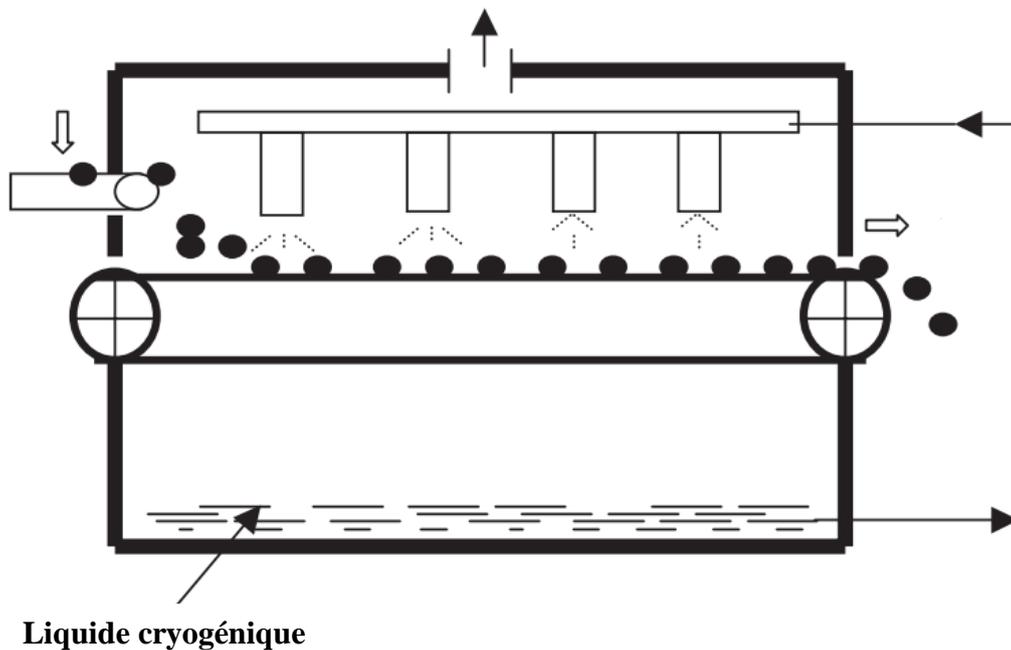


Figure 20: Congélateur cryogénique (Muthukumarappan et Marella, 2007)

2.6 Évaluation de la microstructure des aliments congelés

2.6.1 Microscopie optique

L'observation en microscope optique est généralement réalisée à température ambiante sous forme de coupes histologiques suite à plusieurs étapes de préparation (Alizadeh et al., 2007; Anese et al., 2012).

Les échantillons congelés ont d'abord été fixés à l'aide d'une méthode de substitution utilisant la solution de Carnoy ou Clark. Ils ont ensuite été ramenés à température ambiante et déshydratés (avec de concentration croissante de l'éthanol jusqu'à l'éthanol pur) puis

imprégnés de paraffine pour limiter au maximum les dommages structuraux lors de l'étape finale, en coupant de fines lamelles (~5 µm). La structure des cristaux de glace est ensuite analysée indirectement en visualisant les vides laissés par ces cristaux (Kaale et Eikevik, 2013a). Les observations en microscopie optique nécessitent souvent l'utilisation de techniques sophistiquées pour augmenter le contraste et mieux visualiser les cristaux (Hartel, 2001).

En outre, une autre question clé qui a été mise en évidence ces derniers temps est la nécessité de passer d'une évaluation qualitative à une évaluation quantitative. Cette évolution a conduit au développement de logiciels de traitement d'images avancés dans ce domaine. Les logiciels de traitement d'images sont couramment utilisés après la microscopie optique pour quantifier la microstructure des images observées (Dalvi-Isfahan et al., 2019)

2.6.2 Imagerie par résonance magnétique

La technique d'imagerie par résonance magnétique (IRM) est une technique non invasive qui permet d'observer les effets de la congélation sur la structure et la qualité de la viande tel que le bœuf, l'agneau, porc et volaille (Evans et al., 1998). L'IRM s'est avérée utile pour surveiller et caractériser les transitions de phase de l'eau pendant la cristallisation des aliments (Kerr et al., 1998). Elle quantifie la mobilité relative des molécules d'eau dans un échantillon au cours de ce processus de congélation et la formation de cristaux de glace et leurs distributions sont marquées par une diminution du contraste et de l'intensité de l'image (Jha et al., 2019 ; Dalvi-Isfahan et al., 2019).

2.6.3 Microscopie laser à balayage confocal

La microscopie laser à balayage confocal est utilisée en recherche biologique pour réaliser l'imagerie d'un échantillon en haute résolution et avec un contraste élevé (Girard, Benoît et Forget, 2011). Le microscope laser pourrait balayer des échantillons point par point et traverser les couches de produits sous la surface (jusqu'à 50 µm) ce qui permet également la possibilité d'examiner la structure interne d'échantillons assez épais en trois dimensions (3D) (Dürrenberger et al., 2001). Ainsi, des images (2D) prises à différentes profondeurs dans l'échantillon permettent de reconstruire une image (3D). Grâce à cette technique, il a été possible d'imager en 3D la croissance cristalline pendant la congélation (Marcellini et al., 2016). Cette méthode a été utilisée avec succès pour étudier la morphologie des cristaux de

glace en (3D) et pour surveiller l'évolution microstructurale pendant la congélation et la décongélation de la viande de poulet (Ishiguro et Horimizu, 2008).

2.6.4 Système de traitement d'images des micro-tranches

Ces dernières années, les images de trois dimensions (3D) de matériaux biologiques ont été fréquemment présentées en raison des progrès rapides des technologies de traitement d'images. Le système de traitement d'images des micro-tranches est utile pour mesurer la morphologie des produits alimentaires ayant des formes complexes et configurer des cristaux de glace dans les aliments congelés (Dalvi-Isfahan et al., 2019). La surface de l'échantillon, après chaque coupe, est observée au microscope à fluorescence. Ensuite, les images 3D d'un échantillon sont reconstruites à partir des données d'image des sections transversales exposées obtenues par le multi-tranchage de l'échantillon congelé (épaisseur minimale de 1 μm). Cette technique a été utilisée pour observer les structures de cristaux de glace formées dans la viande bovine congelée (Do et al., 2004).

2.6.5 Micro-tomographie à rayon X

Cette technique permet la visualisation d'image (3D) et l'évaluation de la structure du produit sans préparation de l'échantillon ni fixation chimique préalable (Mousavi et al., 2005). Des rayons X sont émis et traversent l'échantillon en rotation qui atténue ses rayons en fonction de la densité locale et de l'épaisseur de l'échantillon (Landis et Keane, 2010). Les rayons émergents sont réceptionnés au niveau d'un imageur et les quelques centaines d'images, prises pendant la rotation de l'échantillon, sont utilisées pour construire des images (3D) à l'aide d'un logiciel d'analyse d'image approprié (Jha et al., 2019). L'utilisation de la micro-tomographie à rayon X s'est avérée fiable pour l'étude des détails de l'effet de la congélation sur la distribution et la taille des cristaux de glace (Kobayashi et al., 2015). Cette méthode permet d'observer et de visualiser la structure des produits congelés à basse température lorsque l'échantillon est encore dans un état congelé (Vicent et al., 2017 ; Ullah et al., 2014).

2.6.6 Imagerie hyperspectrale

L'imagerie hyperspectrale est une technique non invasive qui explore le spectre électromagnétique permettant de détecter un très grand nombre de bandes allant typiquement du visible jusqu'au proche infrarouge (Dai et al., 2015). Cette technique fait l'acquisition de bandes spectrales étroites (≤ 10 nm) et permet d'obtenir un spectre en chaque pixel (Cheng et

al., 2014; Shan et al., 2018; Xu et Sun, 2017). La technique d'imagerie hyperspectrale a été utilisée avec succès pour distinguer un échantillon frais d'un échantillon congelé-décongelé (Gowen et al., 2009 ; Zhu et al., 2013). Washburn et al. (2017) ont utilisé l'imagerie hyperspectrale à l'état congelé et ont pu différencier des échantillons emballés soumis à différents protocoles de congélation (c'est-à-dire -40°C et -20°C) et conservés pendant 2 jours et 12 mois. De plus, cette méthode a clairement montré des différences entre les échantillons subissant des cycles de congélation-décongélation (Washburn et al., 2017).

2.7 Effets de la congélation/décongélation sur la qualité de la viande

2.7.1 Capacité de rétention d'eau

La viande fraîche contient environ 75% d'eau, dont la majorité est de l'eau retenue dans les myofibrilles (Huff-Lonergan et Lonergan, 2005). La plupart des changements de qualité de la viande dus à la congélation et à l'entreposage congelé, en particulier ceux des propriétés physiques, sont liés à la teneur en eau de la viande (Medic et al., 2018). Il est généralement accepté que la congélation et la décongélation ont une influence négative sur la capacité de rétention d'eau, souvent évalué comme une perte de décongélation et une perte de cuisson (Aroeira et al., 2016; Lagerstedt et al., 2008; Leygonie et al., 2012; Zhang et Ertbjerg, 2019).

Par exemple, des morceaux de viande bovine non congelées conservées pendant 3 semaines ont produit environ 3% de perte au goutte-à-goutte, tandis que les viandes congelées pendant 2 semaines ont produit en moyenne 6% de perte d'eau lors de la décongélation (Kim et Kim, 2017). L'entreposage congelé pourraient provoquer la libération d'une plus grande quantité d'eau de la viande, atteignant plus de 10% après 12 mois de conservation (Daszkiewicz et al., 2018b). D'autres recherches ont trouvé que les cycles répétés de congélation-décongélation pourraient provoquer la libération d'eau de la viande, atteignant une limite d'environ 30% de perte après 5 cycles (Cheng et al., 2019). En outre, plusieurs études axées sur la vitesse de congélation, ont noté que la congélation lente produit souvent une perte de décongélation plus élevée que la congélation rapide (Kim et al., 2018; Kim et al., 2015; Ngapo et al., 1999).

2.7.2 Tendreté

La tendreté de la viande est un attribut complexe influencé par de nombreux facteurs structurels et métaboliques, principalement la concentration du tissu conjonctif et

probablement l'activité des enzymes protéolytiques, des calpaïnes et des cathepsines (Kusec et al., 2016). L'activité de la calpaïne est régulée par la calpastatine (Dransfield, 1994), dont il a été prouvé qu'elle diminue avec la durée de conservation de la viande congelée (Kristensen et al., 2006), ainsi que les dommages structurels dus à la formation de cristaux de glace lors de la congélation, a très probablement influencé sur l'amélioration observée lors de la mesure par la force de cisaillement (Shanks et al., 2002). Il existe un consensus général dans la littérature sur le fait que la tendreté de la viande augmente avec la congélation, l'entreposage congelé et la décongélation lorsqu'elle est mesurée avec la force de cisaillement (Wheeler et al., 1992 ; Lagerstedt et al., 2008; Vieira et al., 2009 ; Grayson et al., 2014 ; Kim et al., 2015; Alonso et al., 2016 ; Coombs et al., 2017 ; Holman et al., 2018 et Medić et al., 2018)

2.7.3 Couleur

La couleur est la principale propriété sensorielle de la viande puisqu'elle détermine la décision du consommateur lors de l'achat (Faustman et Cassens, 1990 ; Risvik, 1994). La couleur de la viande dépend principalement de la quantité et de l'état chimique de la myoglobine, le principal pigment de la viande (Leygonie et al., 2012). La transformation de l'oxymyoglobine en métmyoglobine entraîne le changement d'un rouge cerise souhaitable en une couleur brune indésirable, diminuant ainsi l'acceptabilité de la viande (Suman et Joseph, 2013). Le système CIE Lab étant le plus couramment utilisé pour mesurer la couleur. C'est un espace à trois dimensions $[L^*, a^*, b^*]$ où L^* , correspond à la clarté ou luminosité qui va de 0 (noir) à 100% (blanc), le vert et le rouge se situent le long de l'axe (a^*) et l'axe (b^*) représente la gamme de l'axe jaune-bleu (Figure 1) (Coombs, 2017).

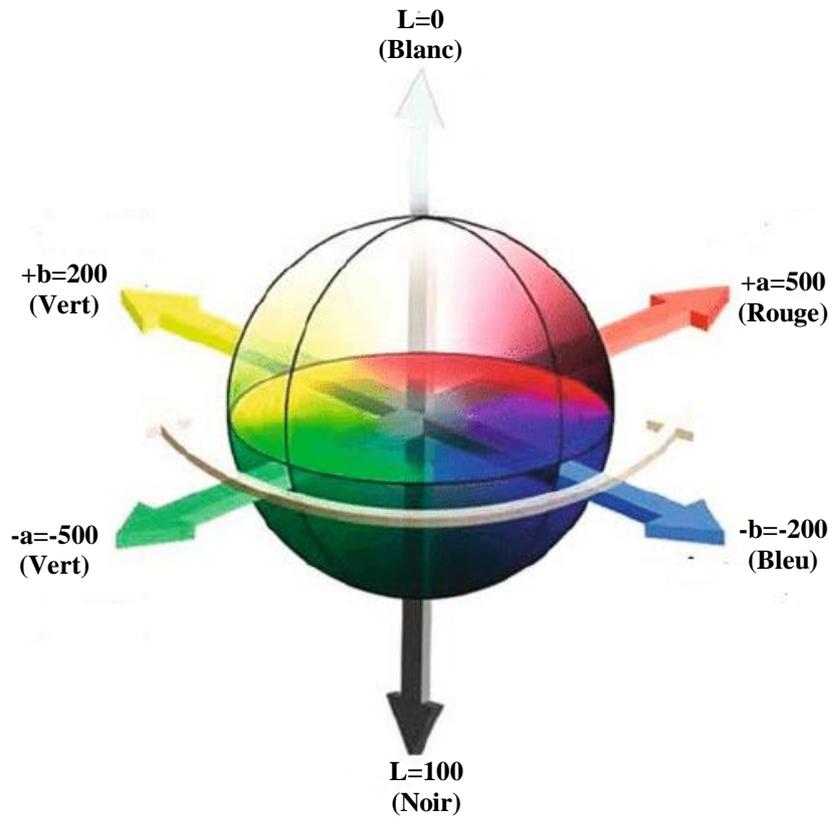


Figure 21: Représentation colorimétrique du système CIE Lab (Singh et al., 2009)

Il a été constaté que la congélation affecte la stabilité de la couleur de la viande rouge, cela est évident dans la littérature et se manifeste par une diminution des paramètres de couleur instrumentale (L^* , a^* , b^*) avec l'augmentation du temps de congélation (Farouk et Swan, 1998 ; Ben Abdallah et al., 1999; Vieira et al., 2009). Cette détérioration de la couleur pourrait être expliquée aux dommages des fibres musculaires causées par des cristaux de glace (Farouk et Swan, 1998). Par conséquent, la myoglobine, qui est soluble dans l'eau, a été identifiée dans l'exsudat musculaire par électrophorèse, démontrant ainsi qu'une partie de cette protéine est perdue de la viande tout au long de la décongélation (Añón et Calvelo, 1980).

Donc, la diminution de la teneur en myoglobine dans la viande et donc la perte de rougeur due à la congélation / décongélation peuvent être importantes, compte tenu du fait que les pertes par décongélation de la viande pourraient aller de 2% à 10% (Alonso et al., 2016; Leygonie et al., 2012; Seong et al., 2017). De plus, la métmyoglobine s'accumule plus rapidement dans la viande décongelée et par conséquent, la détérioration rapide de la couleur de la viande a souvent été observée dans la viande décongelée par rapport à la viande fraîche,

cela conduit à un produit moins attractif par le consommateur (Ben Abdallah et al., 1999; Livingston et Brown, 1981).

2.7.4 Flaveur

La viande est connue pour être une excellente source de nutriments essentiels, composée d'environ 75 % d'eau, 19 % de protéines, 2,5 % de matières grasses, 1,2 % de glucides et 1,65 % de composés azotés (Keeton et Eddy, 2004). Elle contient également une grande quantité de plusieurs minéraux (calcium, phosphore, sodium, potassium, chlore, magnésium) et des oligo-éléments tels que le fer, le cuivre, le zinc et bien. Cette composition chimique transforme la viande en un environnement très favorable aux réactions oxydatives d'autres (Cobos et Díaz, 2015). Il est bien connu que la vitesse des réactions chimiques et enzymatiques diminue avec la diminution de la température de conservation (Leygonie et al., 2012). Néanmoins, l'altération de la flaveur de la viande au cours de sa conservation à l'état congelé résulte de la persistance de ces réactions dans la viande congelée conduisant à l'apparition de produits d'oxydation des lipides perçue comme une augmentation des saveurs rances, et autres mauvais goût (Vieira et al., 2009).

À cet égard, plusieurs recherches ont observé la persistance de réactions d'oxydation dans la viande stockée à -20 °C (Pinheiro et al., 2019; Daszkiewicz et al., 2018a; Deng et al., 2021). En revanche, l'oxydation s'est pratiquement arrêtée à -40 °C, qui est considérée comme la température optimale pour préserver la flaveur de la viande sur une longue période (Estévez, 2011). Cependant, dans les normes officielles de conservation congelée, la température de stockage congelé de la viande est souvent inférieure à -40 °C, généralement autour de -18 °C (JORADP, 2009). Le développement de processus d'oxydation pendant le stockage congelé est fortement lié à l'état physique de l'eau, qui dépend finalement de la température. En effet, la température est un facteur clé pour réguler les réactions oxydatives pendant le stockage congelé: une quantité d'eau environ 10% reste non gelée à une température de -20 °C et donc disponible pour les réactions chimiques (Genot, 2000), mais elle est majoritairement congelée à -40 °C, ce qui rend difficile à la diffusion des réactions chimiques (Beltrán et Bellés, 2019). La méthode à l'acide thiobarbiturique est le principal indice pour la détermination de la rancidité par l'oxydation des graisses dans la viande (Grotta et al., 2017).

2.7.5 Structure de la viande

Lorsque la température descend en dessous de -1°C , l'eau de la zone extracellulaire commence à congeler, la quantité de l'eau devient dépendante fortement de la température de congélation (Jeantet et al., 2006). La teneur en eau congelée est d'environ 75 % de l'eau totale du muscle à -5°C et 85 % à -10°C , et atteint plus de 90 % à -20°C (Grujić et al., 1993). Néanmoins, la quantité d'eau congelée ne dépend pas uniquement de la température mais aussi de la composition du produit. Par exemple à -20°C , plus que 89% de l'eau est congelée pour la viande rouge contre 100% pour la carotte (Wang et Weller, 2011).

Au fur et à mesure que les cristaux de glace se développent dans l'espace extracellulaire, les composés dissous deviennent progressivement plus concentrés dans l'eau non congelée environnante (Ohta et Tanaka, 1978). L'exposition des fibres musculaires à des solutés de concentration élevée dans la zone extracellulaire pendant une longue durée au cours de la congélation produirait une pression osmotique extracellulaire plus élevée tirant l'eau à l'intérieur des fibres musculaires vers l'extérieur, ce qui pourrait entraîner un rétrécissement des fibres musculaires et une déshydratation ultérieure (Kandepan et al., 2006). De plus, il est bien connu que la force ionique peut influencer sur la structure au sein des myofibrilles, pourrait entraîner ainsi des modifications de la structure des protéines et donc leur dénaturation (Shenouda, 1980). Comme les cristaux de glace se fondent lors de la décongélation, la concentration de solutés dans l'eau non congelée diminue progressivement et la pression osmotique externe diminue alors, et par conséquent, les fibres musculaires se réhydratent partiellement pour se récupérer une grande partie de leur volume (Ishiguro et Horimizu, 2008 ; Balan et al., 2019).

Lors de la congélation/décongélation, la microstructure du tissu musculaire change en relation avec le rétrécissement des myofibrilles et la déshydratation ultérieure des cellules suite au mouvement de l'eau de l'intérieur vers l'extérieur des fibres musculaires pendant la congélation (Figure 22).

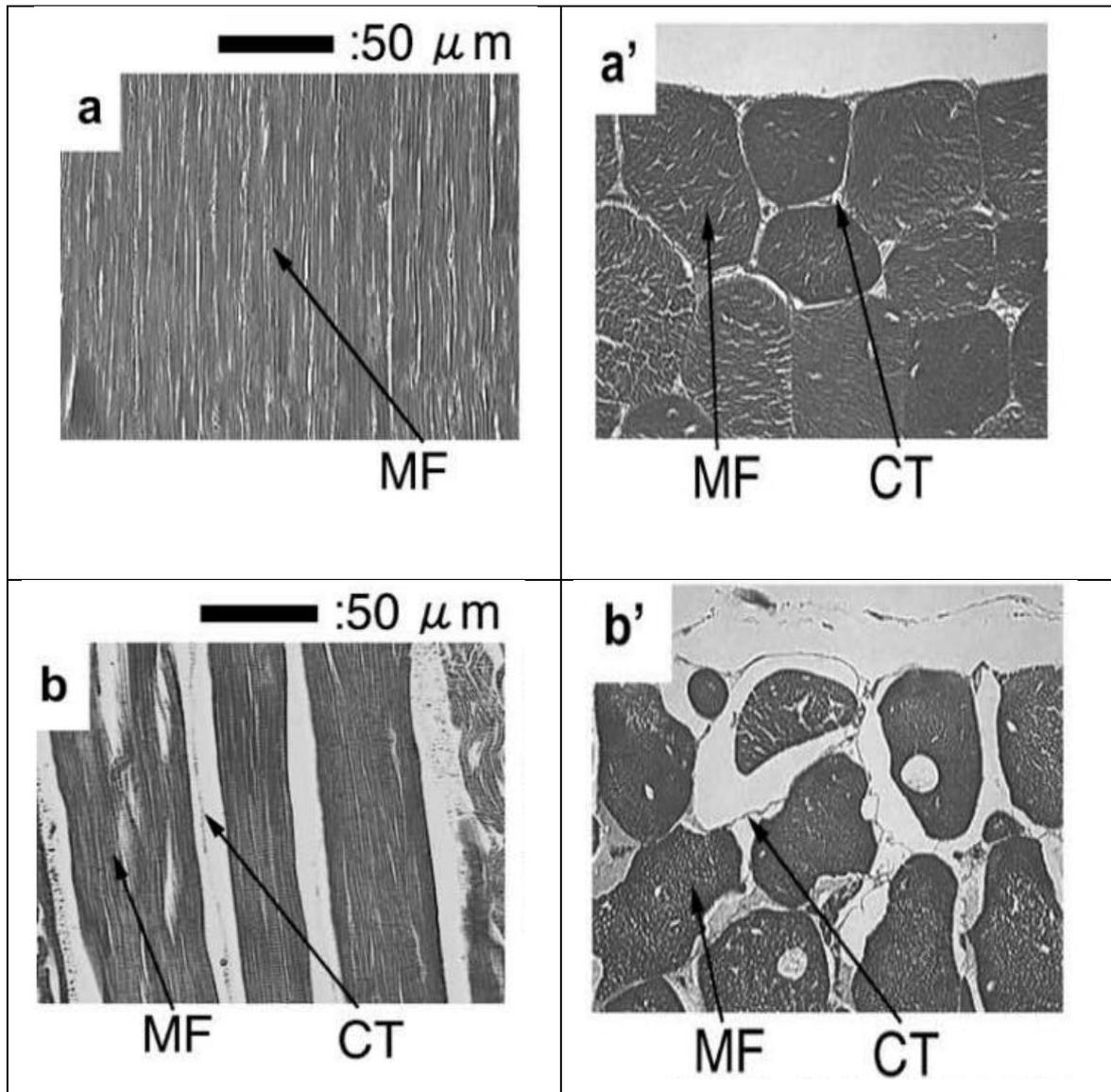


Figure 22: Modifications histologiques des tissus de la viande de poulet après congélation(Ishiguro et Horimizu, 2008).

((a) coupe longitudinale de la viande fraîche, (a') coupe longitudinale de viande après le traitement, (b) coupe transversale de viande fraîche, (b') coupe transversale de viande après le traitement, MF : fibre musculaire, CT : tissu conjonctif)

Sigurgisladottir et al. (2000) ont rapporté une diminution d'environ 20% de la surface des fibres musculaires accompagnée d'une augmentation de l'espace extracellulaire dans le muscle de saumon congelé/décongelé. De même, Li et al.(2018) ont observé une plus grande séparation des faisceaux de fibres musculaires dans les muscles de viande bovine après avoir été congelé à -6°C , -9°C , -12°C et -18°C , respectivement et cette modification est devenue plus évidente avec un stockage prolongé quel que soit le mode de congélation (Figure 23).

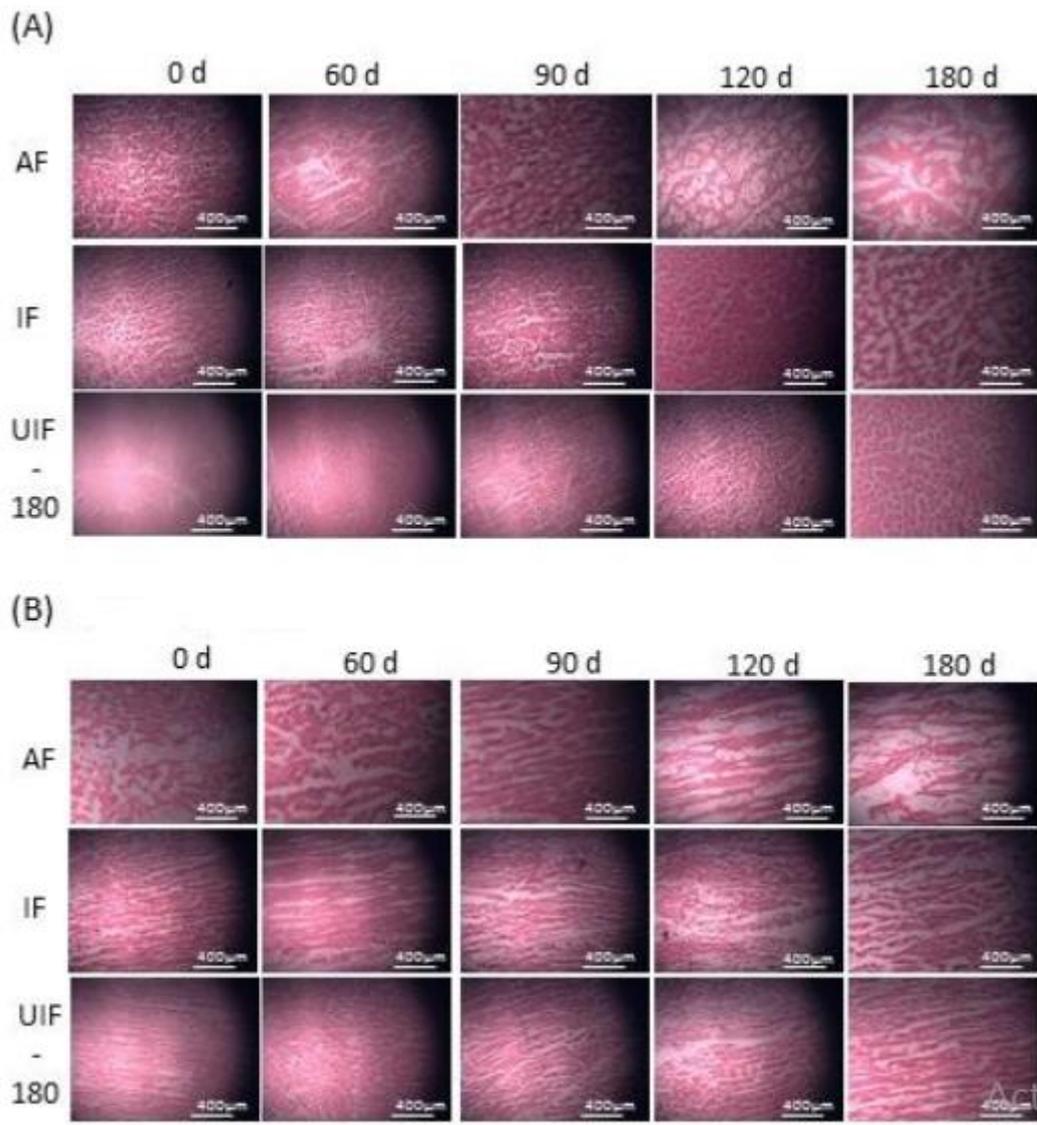


Figure 23: Modifications microstructurales dans les coupes transversale (A) et longitudinale (B) des muscles porcins, congelés par différentes méthodes, pendant le stockage(Zhang et al., 2019a).

(AF, congélation à l'air ; IF, congélation par immersion ; UIF-180, congélation par immersion assistée par ultrasons à 180 W)

2.7.6 Croissance microbienne

L'abaissement de la température a pour effet de ralentir la multiplication et le métabolisme des micro-organismes dans la viande et les produits carnés et par conséquent, il permet de prolonger dans le temps sa conservation et de différer sa consommation(Reid et al., 2017).En ce sens, il a été démontré qu'une réduction de 5 °C (de 4 °C à -1 °C) entraînait une inhibition de la croissance microbienne d'environ 2,5 log UFC/g (Bellés et al., 2017).

La vitesse de croissance microbienne est encore plus faible aux températures de congélation, auxquelles la croissance microbienne est considérablement inhibée (Coombs et al., 2017). En fait, la viande pourrait être conservée pendant 2 ans à -10 °C sans que sa durée de vie microbienne soit compromise (Winger, 1984). Medic et al. (2018) ont expliqué que l'effet de la température de congélation sur la croissance microbienne est lié à la diminution de l'activité de l'eau de la viande. En outre, certaines bactéries d'altération caractéristiques de la viande fraîche, comme *Escherichia* et *Pseudomonas*, ne sont pas capables de se développer à des températures de congélation (Kennedy, 2000). Plusieurs chercheurs soutiennent que la congélation pourrait détruire les micro-organismes principalement en raison de la formation de cristaux de glace, de la concentration de solutés, ce qui pourrait expliquer la réduction de la charge microbienne pendant le stockage congelé observée dans la viande ovine (Bellés et al., 2018a; Fernandes et al., 2013).

En revanche, d'autres chercheurs suggèrent que la congélation est incapable de détruire la flore microbienne présente dans la viande. Les micro-organismes sont inactifs pendant l'entreposage congelé et seront capables de se multiplier lorsque la température augmente (Leygonie et al., 2012). Les conditions de croissance microbienne sont plus favorables pendant la décongélation et l'augmentation de la température ainsi que la perte de liquide pendant la décongélation, fournissent un milieu adéquat à la croissance microbienne riche en protéines, minéraux et vitamines (Coombs et al., 2017). Il est donc essentiel que la viande décongelée soit manipulée et stockée de manière hygiénique (Holman et al., 2018).

2.7.7 Dénaturation des protéines

Dans la composition de la viande, les protéines sont considérées comme le deuxième composant important après l'eau, représentant environ 20% (Touraille, 1994). La dénaturation des protéines est un phénomène complexe décrivant souvent des modifications des structures secondaires et tertiaires résultant principalement de la rupture des forces non covalentes de protéine (Dara et al., 2021). La dénaturation qui se produit dans les protéines musculaires au cours de la congélation et de la décongélation se manifeste par des modifications de certaines caractéristiques physiques et chimiques des protéines (Genot, 2000).

Ces changements se traduisent principalement par une diminution de la solubilité des protéines myofibrillaires, contribuant ainsi à une perte accrue de la solubilité des protéines totales (Chan et al., 2011 ; Qi et al., 2012 ; Qian et al., 2019).

En ce qui concerne les activités enzymatiques, les situations rencontrées sont diverses. Certaines enzymes comme l'ATPase sarcoplasmique et les différentes déshydrogénases diminuent leur activité progressivement au cours l'entreposage congelé (Nambudiri et Gopakumar, 1992). D'autres enzymes en particulier, protéases, lipases et peroxydases restent remarquablement actives au froid (Buttkus, 1970). L'activité des protéases se traduit par une fragmentation lente des protéines myofibrillaires et l'augmentation des quantités de peptides et acides aminés libres (Zhang et Ertbjerg, 2018). Les lipases libèrent des acides gras. Or, des réactions entre produits d'oxydation des lipides et des protéines pourraient contribuer à la diminution de la solubilité des protéines (Genot, 2000). Ces phénomènes viennent se conjuguer aux dommages mécaniques, causés aux fibres musculaires par les cristaux de glace, et à la dénaturation des protéines pour entraîner une diminution du pouvoir de la rétention d'eau (Zhang et Ertbjerg, 2018).

3 LA RÉGLEMENTATION AU SERVICE DU CONSOMMATEUR

La conservation des aliments à l'état congelé a pour objectif en premier lieu d'inhiber la croissance des micro-organismes. À -10 °C, il y a arrêt de toute multiplication bactérienne, y compris des bactéries psychrotropes et psychrophiles (Nout et al., 2003). À -12 °C, les moisissures cessent de se multiplier et à -18 °C, les levures (Genot, 2000). Néanmoins, même si la maîtrise de la température permet d'éviter la multiplication bactérienne, il faut éviter la contamination des produits alimentaires lors de malpropretés des matériels et d'équipements (Jeantet et al., 2006).

Une réglementation (Arrêté 20 novembre 1999 relatifs aux températures et procédés de conservation par réfrigération, congélation), concernant l'utilisation de la congélation dans le secteur de l'alimentation humaine a été élaborée (JORADP, 1999). Cette réglementation fixe les conditions de température requises et qui doivent être maintenues dans la chaîne du froid du producteur au consommateur assurant une température de -18 °C, une limite fixée aussi par la plupart des réglementations internationales (JOUE, 2004;JORF, 2020).

Le suivi et la maîtrise de la chaîne du froid sont un prérequis pour une gestion et une optimisation fiable de la qualité (Giannakourou et al., 2006). Aussi, la réglementation exige que la température des aliments congelés soit maintenue à -18 °C en tout point du produit, avec de brèves fluctuations à la hausse ne dépassant pas 3 °C pendant le transport (JOUE, 2004). De plus, les changements de température pendant les cycles de dégivrage au niveau de la vente au détail et domestique peuvent avoir un impact significatif. Cependant, il est généralement admis que des fluctuations de 3 à 5 °C peuvent se produire dans n'importe quelle partie de la chaîne du froid (McKenna, 2006).

CHAPITRE 2

MATÉRIEL ET MÉTHODES

CHAPITRE 2 : MATÉRIEL ET MÉTHODES

1 MATÉRIEL

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de chimie, faculté des sciences de la matière et le laboratoire d'histologie de l'institut des sciences vétérinaires et des sciences agronomiques, université Batna1.

Pour évaluer la qualité de la viande congelée, nous avons procédé dans un premier temps à mesurer des paramètres physico-chimiques et biochimiques (teneur en eau, pH, activité de l'eau (aw), conductivité électrique (Ec), perte de décongélation, perte de cuisson, capacité de rétention d'eau, couleur, solubilité des protéines, oxydation des lipides) puis une étude histologique complétée par une étude histomorphométrique.

3.1 Matériel biologique

Les vingt échantillons qui sont choisis proviennent des bovins abattus, âgés de moins de deux ans au niveau de l'abattoir municipal de la ville de Batna située au nord-est de l'Algérie, Les prélèvements ont été réalisés à partir du *biceps femoris* 24 heures après l'abattage. Les échantillons sont transportés au froid dans des boîtes en plastique à fermeture hermétique.

Pour les analyses de la qualité physico-chimique de la viande, les échantillons de la viande fraîche ont été analysés le jour même, tandis que les échantillons restants ont été divisée en six parties correspondant aux six périodes de la congélation (2, 4, 6, 8, 10 et 12 mois) notant que ces échantillons ont été emballés sous vide à l'aide d'une emballeuse sous vide (Figure 24) et congelés à -23°C . Le suivi de la température tout en long de la période de stockage a été réalisé à l'aide d'un thermomètre (TIA 101). Pour chaque période de congélation, les échantillons congelés ont été décongelés au réfrigérateur à $4 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ pendant 24 heures avant les analyses.



Figure 24: Emballage sous vide de la viande

3.2 Matériel d'analyse

Dans le cadre de notre étude, le matériel utilisé à chaque étape d'analyse soit physico-chimique ou histologique est reporté dans le tableau 3.

Tableau 3: Matériels utilisés en physico-chimie et histologie

Appareillage	Produits et solutions	Autres
–Appareil de l'activité de l'eau (Rotronic, Hygroscope BT-RS1)	–Acide picrique	–Bavettes
–Appareil pH mètre (INOLAB WTW 720).	–Albumine	–Blouse
–WTW Conductimètre (WTW Lab 540)	–Acide thiobarbiturique	–Cassettes en plastiques
–Automate d'inclusion(BAVIM ED)	–Acide trichlorate acétique	–Gants
–Bain- marie (GFL 1052)	–Acide chlorhydrique	–Lamelles
–Balance analytique (KERN)	–Eau distillée	–Lames
–Distributeur de paraffine (Medax)	–Éosine	–Lames de

<ul style="list-style-type: none"> –Centrifugeuse –Microscope optique (Zeiss Axioskop 20) –Microtome (Leica, Jung-histocut, 820). –Plaque chauffante (OMNILAB) –Plaque de refroidissement (SLEE, MPS/C) –Thermomètre infrarouge (TIA 101) 	<ul style="list-style-type: none"> –Ethanol –Eukitt –Formol –Glycérine –Hématoxyline –Indigo- carmine –Hydroxyde de sodium –Sulfate de cuivre –Iodure de potassium – K₂HPO₄ – KH₂PO₄ –Paraffine –Tartrate de sodium et potassium –Xylène 	<ul style="list-style-type: none"> bistouri –Moules en acier inoxydable –Pincés –Portoirs de lame –Papiers filtres
---	--	---

2 MÉTHODES UTILISÉES

Au laboratoire, les échantillons de la viande sont découpés et répartis selon les différentes analyses à effectuer, qui sont résumées sur la Figure 25.

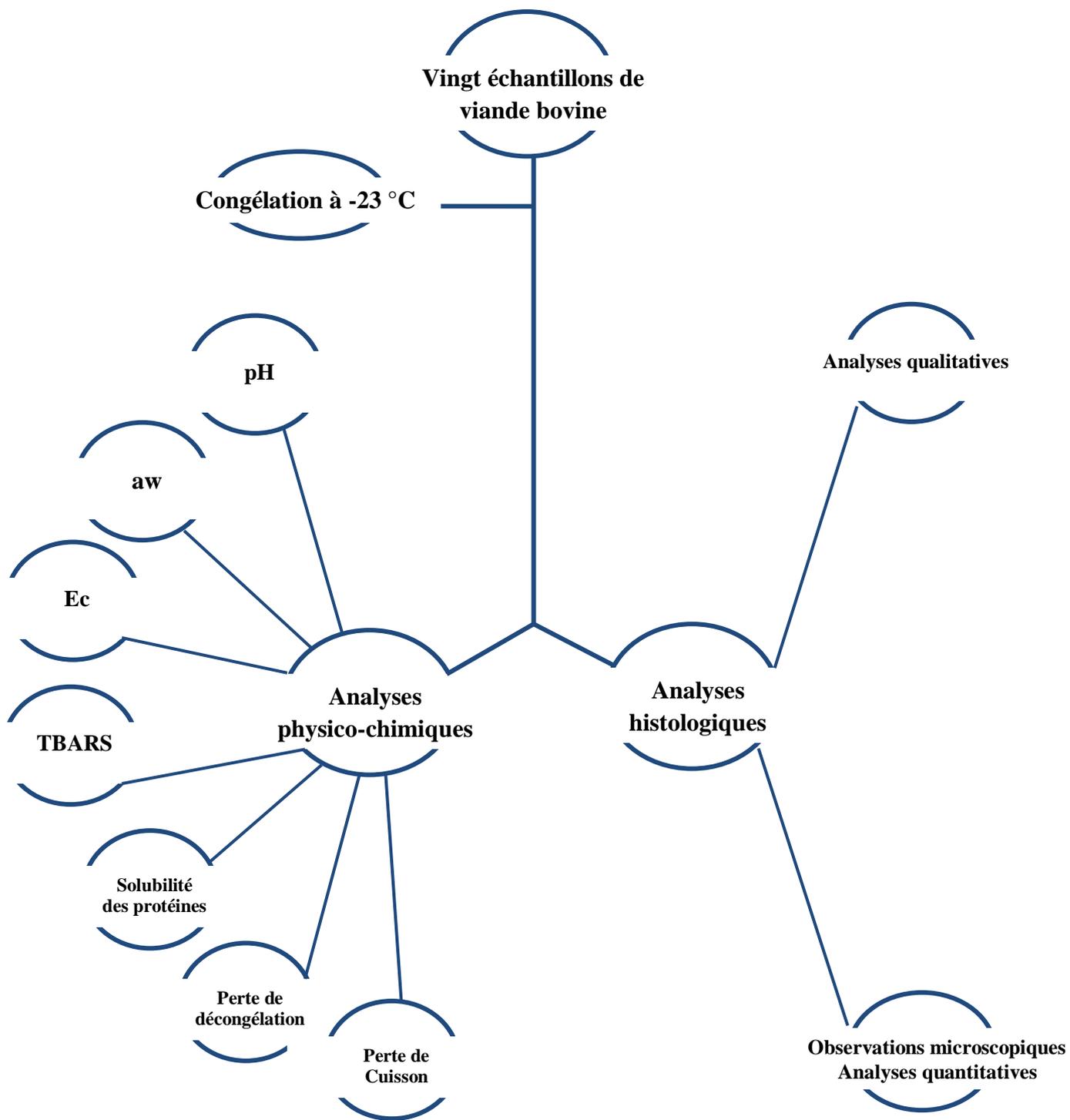


Figure 25: Les analyses effectuées sur les échantillons

3.1 Paramètres physico-chimiques et biochimiques

3.1.1 Détermination du pH

À partir d'un mélange obtenu en broyant 10 g de viande dans 100 millilitres d'eau distillée (Lorenzo et al., 2008). Le pH est mesuré avec un pH-mètre INOLAB calibré en plongeant l'électrode dans l'homogénat.

3.1.2 Détermination de l'activité de l'eau

L'activité de l'eau (a_w) est mesurée avec un appareil de type : Hygroscope BT-RS1 Rotronic. Cet appareil est constitué de trois éléments principaux : une cuvette à échantillon, un capteur de mesure et un système de lecture de la mesure.

La masse d'échantillon a été coupée en petits morceaux et mise dans un récipient d'échantillon. Ce dernier a été placé dans la cuvette à échantillon remplie au $\frac{3}{4}$. Ensuite, le capteur de mesure a été immédiatement placé sur la cuvette à échantillon. Le résultat a été lu dès que les valeurs (a_w) et de température sont devenues stables (Figure 26).



Figure 26: Détermination de l'activité de l'eau

3.1.3 Détermination de la conductivité

La méthode de mesure utilisée est celle qui a été décrite par Jia et al. (2019), avec quelques modifications. En bref, 10 g de viande ont été homogénéisés avec 100 ml d'eau distillée puis agités pendant 30 min. Ensuite, le mélange a été filtré et la conductivité électrique du filtrat a été mesurée à l'aide d'un conductimètre (WTW Lab 540).

3.1.4 Détermination de pertes parla cuisson

Les pertes à la cuisson sont déterminées selon la méthode décrite par Choi et al. (2017). Elles sont mesurées à partir des échantillons de viandes décongelées emballées dans des sacs en polyéthylène. Les échantillons sont cuits dans un bain-marie thermostaté à 80° pendant 15 minutes. Les échantillons sont retirés et refroidis sous l'eau courante. Les échantillons étaient ensuite sortis des sachets, essuyés par des papiers absorbants. La différence entre le poids cru et cuit permet de déterminer les pertes à la cuisson qui sont exprimées en pourcentage du poids de l'échantillon cru.

$$\text{Pertes à la cuisson (\%)} = \frac{[(\text{poids avant cuisson} - \text{poids après cuisson}) / \text{poids avant cuisson}] * 100}$$

3.1.5 Détermination de perte à la décongélation

Les pertes à la décongélation sont mesurées selon la méthode décrite par Xia et al. (2009), par pesée de l'échantillon avant la congélation et après la décongélation. Les pertes en liquides sont exprimées en pourcentage du poids initial des échantillons avant la congélation.

$$\text{Pertes à la décongélation (\%)} = \frac{[(\text{poids avant congélation} - \text{poids après décongélation}) / \text{poids avant congélation}] * 100}$$

3.1.6 Détermination l'oxydation des lipides

L'oxydation des lipides a été évaluée par des substances actives de l'acide thiobarbiturique (TBARS) selon la procédure développée par Buege et Aust (1978). Un échantillon de 5 g de viande a été mélangé dans 50 ml d'eau distillée pendant 1 min. Un millilitre de solutions d'échantillon a été combiné avec deux millilitres de solution d'acide thiobarbiturique 20 mM / d'acide trichloracétique à 15% / 0,25 N acide chlorhydrique (TBA / TCA / HCl). Le mélange a été chauffé à 90 °C dans un bain-marie pendant 40 min. Ensuite, la solution a été refroidie puis centrifugé (2000×g, 10 min, 25°C). L'absorbance de la couche supérieure de la solution a été mesurée à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre en utilisant un coefficient d'extinction molaire de $1,56 * 10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

3.1.7 Détermination de la solubilité des protéines

La solubilité des protéines a été mesurée selon la méthode de Zhang et al. (2017) avec des modifications mineures. Les protéines totales ont été extraites d'un échantillon de 1 g en utilisant 10 ml de solution (iodure de potassium 1,1 M dans une solution tampon pH 7,2).

Les échantillons de viande bovine ont été homogénéisés avec la solution dans un bain d'eau contenant des glaçons, puis réfrigérés pendant 20 h. Après la centrifugation (2600 ×g, 30 min, 4°C), les protéines du surnageant ont été quantifiées en utilisant le test Biuret. La solubilité des protéines a été calculée en mg de protéines par g de viande.

Préparation du réactif

-Dissoudre 1.5g de sulfate cuivre et 6g de tartrate double de Na/K dans 500 ml d'eau distillée, puis ajouter 300 ml d'une solution de soude 15% et compléter avec l'eau distillée jusqu'à 1 litre. Le réactif de biuret doit être conservé dans un flacon bien fermé et à l'abri de la lumière.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en respectant les étapes suivantes : une gamme étalonnage de concentrations a été effectuée à partir d'une solution-mère (10g/l) de l'albumine issue des œufs. Les concentrations utilisées sont illustrées dans le tableau suivant :

Tableau 4: Concentration des protéines

Volume de Pr standard (ml)	Volume de l'eau distillée (ml)	Volume de réactif Biuret (ml)
0,0	1,0	4
0,2	0,8	4
0,4	0,6	4
0,6	0,4	4
0,8	0,2	4
1,0	0,0	4

Conserver à l'obscurité pendant 30 min

L'absorption de la solution a été effectuée à une longueur d'onde de 540 nm et avec l'utilisation d'un spectrophotomètre. La courbe d'étalonnage est tracée en utilisant le logiciel Microsoft Office Excel 2010 (Figure 27) et qui présente un coefficient de corrélation assez élevée ($r^2 = 0,991$) entre la concentration et l'absorption à 540 nm.

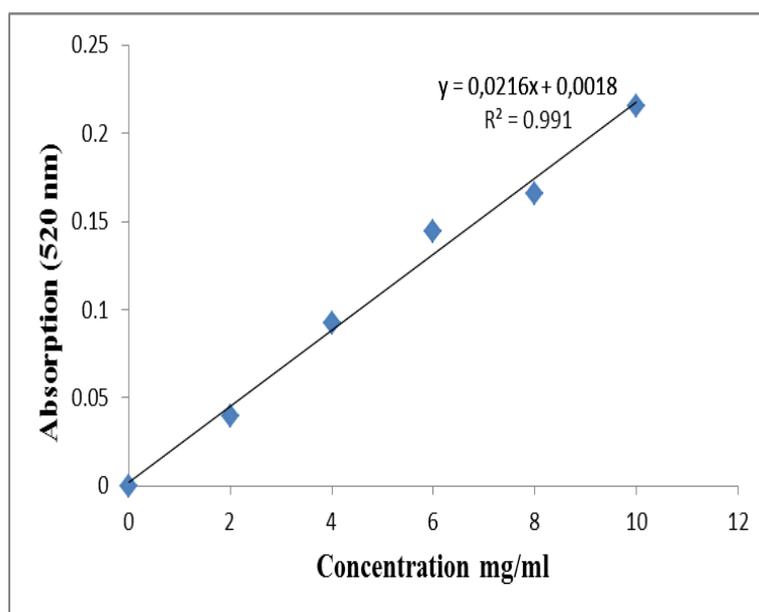


Figure 27: Courbe d'étalonnage de la concentration des protéines

3.1.8 Détermination de la couleur

La couleur a été mesurée selon la méthode du système de vision par ordinateur (Tomasevic et al., 2019). Les valeurs CIE (L^*), (a^*), (b^*) ont été mesurées avec le logiciel Adobe Photoshop CS3 utilisé pour le traitement et l'analyse d'image (Figure 28).

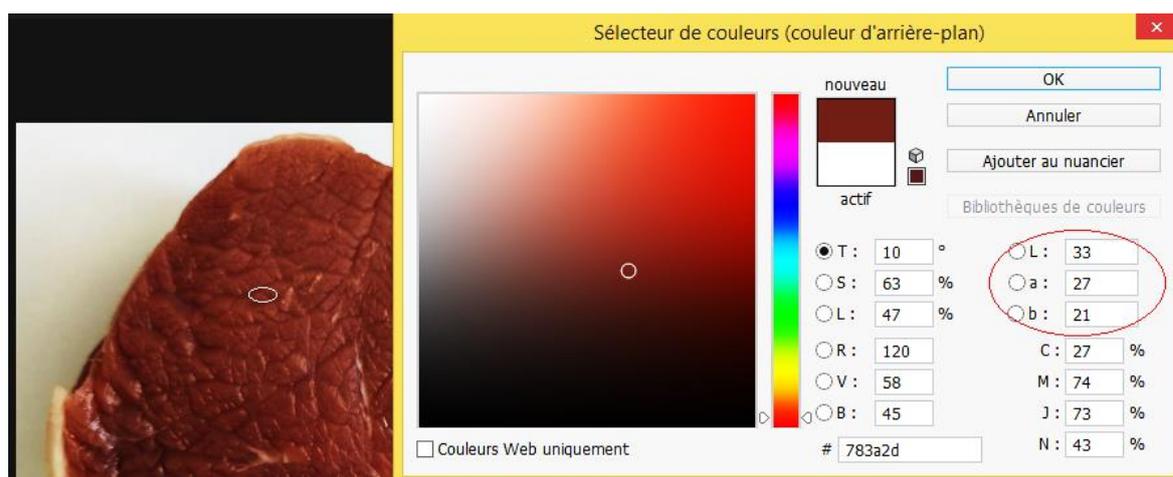


Figure 28: Analyse d'image à l'aide du logiciel Adobe Photoshop CS3.

(Les valeurs L^* , a^* et b^* ont été mesurées sur l'image numérique de l'échantillon visualisée)

3.2 Étude histologique

3.2.1 Réalisation des coupes histologiques

3.2.1.1 Fixation

Le but de la fixation de l'échantillon est de maintenir le tissu dans un état aussi proche que possible de son état d'origine. Elle est assurée par la solution de Clarke, qui prévient la lyse des tissus et conserve sa structure. Fixez en immergeant les échantillons dans la solution de Clarke (75% éthanol pur et 25% acide acétique) pendant 24 heures.

Après la fixation, des pièces sont coupées à l'aide d'une lame de bistouri. Ces pièces sont ensuite placées dans des cassettes en plastique, numérotées au crayon.

3.2.1.2 Déshydratation et imprégnation à la paraffine

Les cassettes sont placées dans un automate d'histologie (BAVIMED). Cet appareil comporte douze bacs disposés en cercles, il permet un transfert automatique du panier contenant les cassettes des prélèvements d'un bac à un autre.

La circulation est réalisée en trois phases successives : la déshydratation, l'éclaircissement et l'imprégnation.

La déshydratation permet la suppression de toute l'eau extractible en vue de l'inclusion dans un milieu non hydrosoluble, par passage des échantillons dans des bacs d'éthanol de degrés croissants de 80 % à 100%. L'éthanol pénètre dans des prélèvements tout en chassant l'eau tissulaire.

Afin de faire durcir les prélèvements davantage, l'imprégnation dans la paraffine liquide est obligatoire et permet de préparer l'étape d'inclusion à la paraffine. Cependant, la paraffine n'est pas miscible à l'alcool, c'est pourquoi, un passage dans un liquide intermédiaire, le xylène, qui est miscible à la fois à l'alcool et à la paraffine est nécessaire.

Les cassettes sont donc immergées dans deux bains de xylène (agent éclaircissant), le xylène remplace dans un premier temps l'éthanol dans les tissus en les rendant transparents et dans un second temps, laisse place à la paraffine.

Enfin, les cassettes sont trempées dans deux derniers bacs de paraffine chauffée à 58°C, point de fusion de la paraffine. Les prélèvements sont alors imprégnés de la paraffine liquide et l'eau remplacée par la paraffine.

3.2.1.3 Inclusion et mise en bloc

L'inclusion a pour but de permettre la réalisation des coupes fines, elle est réalisée grâce à un distributeur de paraffine d'où s'écoule la paraffine liquide chauffé à 60 °C et d'une plaque de refroidissement permettant le durcissement rapide en bloc de la paraffine liquide.

Dans un premier temps, la paraffine est versée dans un moule en acier inoxydable puis la pièce à inclure est déposée dans le moule à l'aide d'une pince. Ensuite, la cassette servant de support à la pièce est ajustée sur le moule et la paraffine liquide est reversée sur la cassette afin qu'elle adhère à la pièce. Enfin, le moule est mis sur la plaque de refroidissement pour accélérer le durcissement de la paraffine. Le bloc obtenu est démoulé après 10 minutes environ.

3.2.1.4 Microtomie

Elle consiste à confectionner des coupes minces de 5 à 7 μm d'épaisseur à partir d'un bloc à l'aide d'un microtome de marque (Leica, Jung-histocut 820) gradué de 0 à 50 μm . Le bloc est fixé sur le porte blocs dans le microtome d'une façon à ce que sa surface soit verticale, parallèle et ajustée à la lame coupante du microtome.

Le microtome fonctionne par un système de rotation, la roue motrice est tournée à l'aide d'une manivelle, ce qui entraîne un déplacement vertical du bloc pour mettre au contact de la lame coupante. Pour commencer, il faut enlever d'abord l'excès de la paraffine qui recouvre les tissus et pour l'effectuer, le microtome doit être réglé entre 10 et 15 μm . Une fois le dégrossissement est terminé, la confection des coupes peut avoir lieu. Pour ce faire, l'épaisseur de la coupe du microtome doit être réajustée entre 5 à 7 μm , ce qui permet d'avoir des coupes minces sous formes de rubans.

3.2.1.5 Étalement

Lors de la coupe, les tissus inclus dans la paraffine sont très comprimés et pour atténuer cette compression et enlever les plis du tissu, les rubans obtenus doivent être étalés à chaud dans un bain marie et récupérés sur des lames en verre comprenant le numéro de la pièce préalablement recouvertes de solution de Mayer pour éviter la perte des coupes au cours des étapes suivantes.

Le liquide d'étalement de Mayer est le plus utilisé en pratique courante et il est constituée à partie égale de :

- L'albumine (blanc d'œuf)

- La glycérine.

Diluer au moment de l'emploi (1vol. + 20 vol. d'eau distillée).

3.2.1.6 Déparaffinage et réhydratation

Le déparaffinage permet d'éliminer le milieu d'inclusion. C'est une étape préparatoire à la coloration, elle permet à la coupe de recevoir les colorants où les lames sont plongées dans deux bains de xylène pendant 2 minutes afin de la dissoudre.

Après avoir retiré toute la paraffine des tissus, il est nécessaire de les réhydrater.

La réhydratation consiste à retirer le xylène des tissus et le remplacer par de l'eau, c'est pourquoi les lames sont plongées d'abord dans 4 bains d'éthanol de concentration décroissante puis sont rincées dans un bac d'eau distillée pendant 10 minutes.

3.2.1.7 Coloration

La coloration des lames histologiques a été réalisée en suivant le protocole de la coloration à base d'hématoxyline et éosine décrits par Luna(1968).

-Hématoxyline (15 minutes).

-Eau de robinet (15 minutes).

-Eau distillée (15 minutes).

-Éthanol 80% (02 minutes).

-Éosine (15 secondes à 02 minutes).

-Éthanol 95% (02 minutes).

-Éthanol 100% (02 minutes).

-Éthanol 100% (02 minutes).

-Xylène (02 minutes).

-Xylène (02 minutes).



Figure 29: Principales étapes de la réalisation des coupes histologiques

3.2.1.8 Montage

La coupe histologique est recouverte d'une lamelle. Pendant cette procédure, une goutte de liquide de montage (Eukitt) est appliquée sur la coupe, puis la coupe histologique est recouverte d'une lamelle. Après séchage à température ambiante, les lames sont prêtes à être examinées au microscope optique.

3.2.2 Examen des lames

Toutes les coupes préparées ont été observées minutieusement avec un microscope optique (Zeiss Axioskop 20) équipé d'une caméra numérique et d'un logiciel d'acquisition d'images (SLS-Mvision).

3.3 Analyses histomorphométriques

3.3.1 Mesures histomorphométriques

Dans les images, les zones blanches proches du cercle au sien du tissu ont été sélectionnées comme des cristaux de glace pour l'analyse. Pour ces zones blanches, nous les avons mesurés divers paramètres à l'aide un programme libre, ImageJ (version 1.52a) (Figure 30), largement utilisé pour le traitement et l'analyse d'images biologiques. Ce logiciel permet de transformer les informations en données, qui peuvent alors être facilement analysées et quantifiées. Afin de calibrer les mesures spatiales des objets analysés, initialement représentés comme le nombre de pixels, une lamemicroométrique standard a été utilisée.

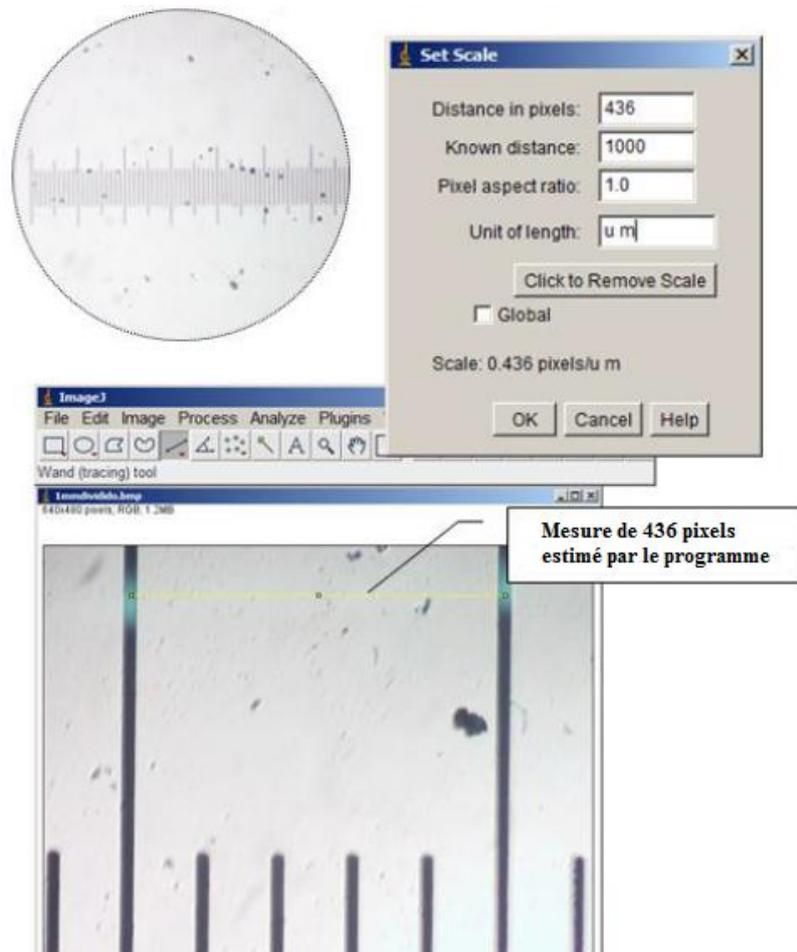


Figure 30: Interface du logiciel ImageJ

3.3.2 Détermination de la dimension fractale (D_F)

Les images capturées de la section transversale ont été converties en images binaires. Une analyse fractale des cristaux de glace a été effectuée, dans laquelle la méthode de l'aire périmétrique a été utilisée pour mesurer les dimensions fractales (Hagiwara et al., 2002). La morphologie des cristaux de glace a été analysée en utilisant un logiciel de traitement d'images ImageJ (version 1.52a). Le périmètre P et la surface S pour chaque cristal de glace ont été calculés. La relation entre le périmètre et la surface des cristaux de glace a été déterminée à l'aide de l'équation suivante.

$$S \propto P^{2/D_F}$$

01

D_F : dimension fractale.

S :surface d'un cristal de glace (μm^2)

P : périmètre d'un cristal de glace (μm)

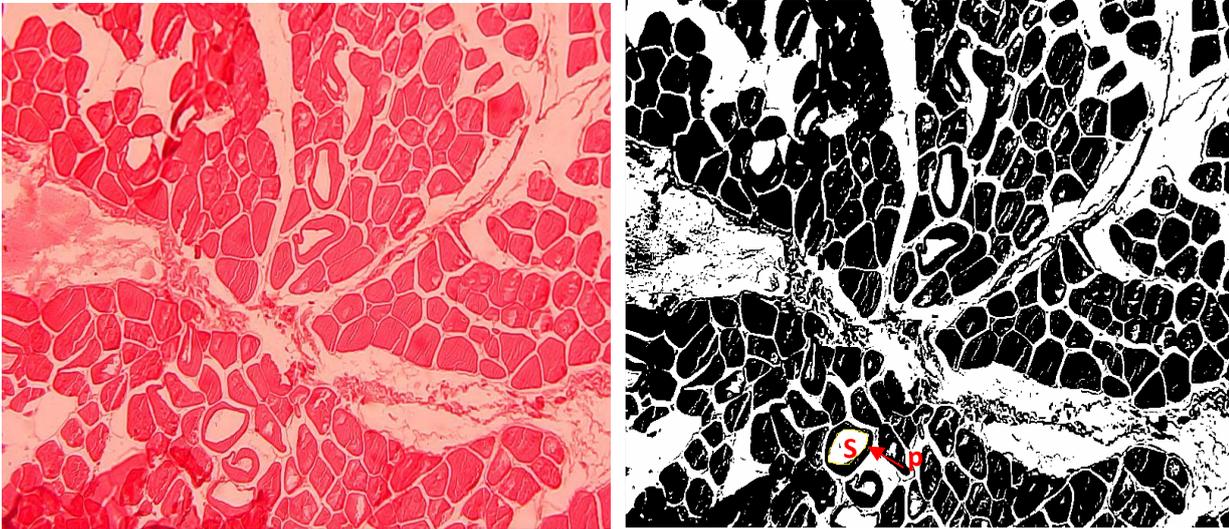


Figure 31: Détermination de la dimension fractale d'un tissu de viande congelée

3.4 Analyses statistiques

Toutes les données ont été saisies dans une base informatique classique (Excel 2010).

L'analyse statistique a été réalisée à partir des valeurs observées par l'application de variance (ANOVA) en utilisant le logiciel SPSS software version 20 (IBM SPSS Statistics v22).

La comparaison des moyennes a été effectuée en utilisant la méthode Tukey. La différence est considérée comme significative si la probabilité ($p < 0.05 \alpha$). Dans le cas contraire, la différence est considérée comme non significative ($P \geq 0,05$).

CHAPITRE 3

RÉSULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE 3 : RÉSULTATS ET DISCUSSION

1 ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

1.1 pH

La durée de la conservation congelée a eu un effet significatif ($p < 0,05$) sur le pH à 4, 6, 8, et 12 mois d'entreposage congelé (Figure 32). Les échantillons de la viande fraîche présentent les valeurs de pH les plus basses avec une moyenne de $5,57 \pm 0,038$. Cette augmentation du pH à 4 mois de congélation pourrait être due à la libération d'acides aminés libres et de dipeptides suite à l'hydrolyse des protéines (Hou et al., 2020). Bien que les acides aminés libres et les dipeptides n'ont pas été déterminés dans cette étude. Braggins et al. (1999) ont mesuré les changements d'acides aminés libres pendant le stockage réfrigéré de la viande ovine et ont conclu que l'augmentation du pH observée dans leur étude était probablement due à une augmentation des acides aminés libres basiques par rapport aux acides aminés libres acides.

Par conséquent, l'augmentation de la valeur du pH dans cette étude pourrait être principalement attribuée à l'augmentation des substances alcalines en accord avec Farouk et al. (2003) et Medić et al. (2018) qui ont réalisé des études sur la viande bovine et porcine conservés jusqu'à 12 et 18 mois respectivement. D'autre part, Muela et al. (2015) ont déterminé des valeurs de pH inférieures pour viande ovine après 1, 9, 15 et 21 mois de congélation par rapport à la viande fraîche.

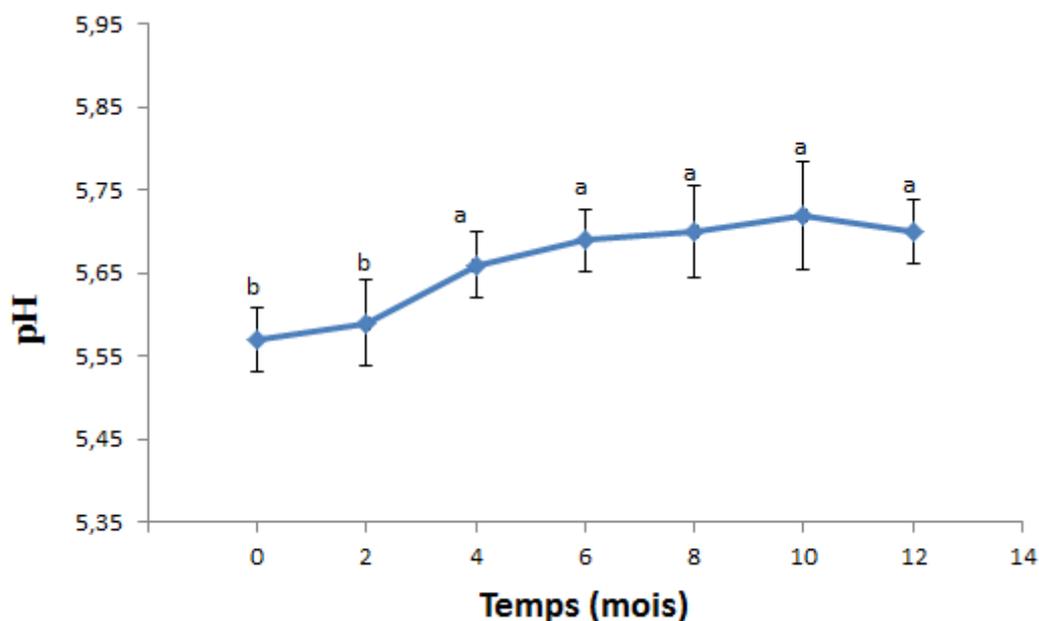


Figure 32: Les valeurs de pH de la viande pendant la congélation.

1.2 Activité de l'eau (aw)

L'eau qui se trouve dans les aliments joue un rôle essentiel dans la croissance microbienne et dans diverses réactions chimiques (Zhang e al., 2019a). Il a été démontré que les réactions nuisibles dans les aliments sont souvent liées à l'activité de l'eau de l'aliment et n'ont pas à sa teneur en eau (Malcolm, 1999; Black et Jaczynski, 2008). Les résultats de l'activité de l'eau (aw) de différents échantillons de viande en fonction de la durée de conservation congelée sont présentés dans la Figure 33.

Dans les échantillons issus de la viande fraîche, la moyenne de l'activité de l'eau est de 0,945. Avec l'augmentation de la durée de congélation, l'activité de l'eau a significativement diminué après deux mois dans tous les échantillons de la viande congelée. Même si la valeur de l'activité de l'eau diminue après la congélation, elle augmente vers 10 mois puis diminue encore une autre fois vers la fin du stockage (12 mois). He et al. (2015) ont constaté que les variations de l'activité de l'eau sont liées à la migration des fluides et à la cristallisation de glace.

Contrairement aux résultats de cette étude, Coombs et al. (2017) n'ont pas observé de changements de aw dans la viande ovine congelée à -12 et à -18 ° C pendant une durée de 52 semaines.

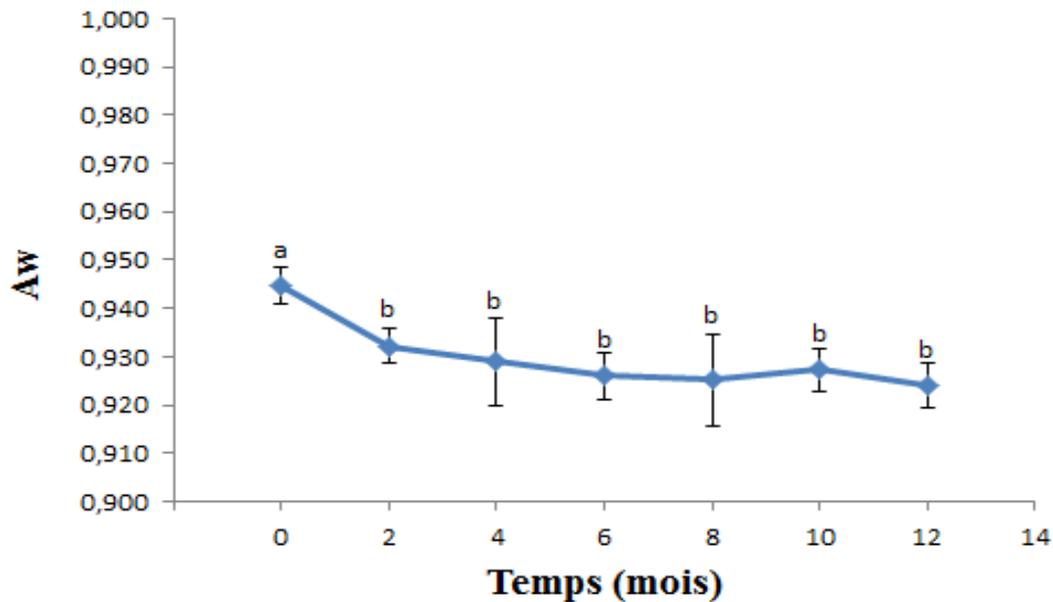


Figure 33: Les variations de l'activité de l'eau de la viande pendant la conservation congelée.

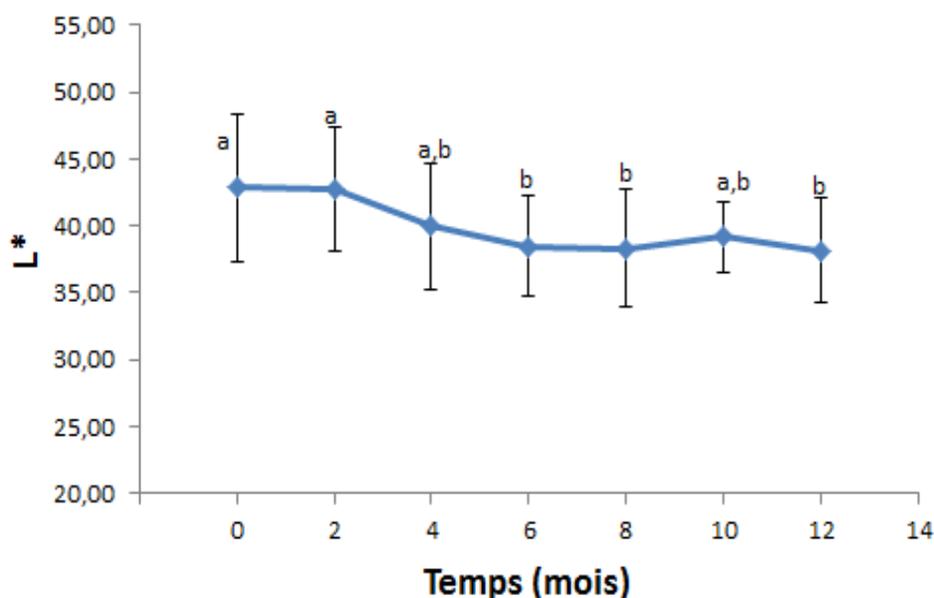
(a et b indiquent une différence significative des valeurs aw de la viande)

1.3 Couleur

La couleur de la viande a une influence importante sur l'apparence et l'acceptabilité sur le marché (Zhang et al., 2019b). Comme le montre la Figure 34, la valeur (L^*) a diminué d'une manière significative à partir du 4 mois de stockage ($P < 0,05$). Des résultats similaires ont été rapportés par Muela et al. (2010) et Muela et al. (2015) selon lesquels les valeurs de la luminance (L^*) de la viande avaient tendance à diminuer à mesure que la durée de stockage était prolongée. La teneur et l'état chimique de la myoglobine sont un facteur important pour déterminer la couleur de la viande (Leygonie et al., 2012; Mancini and Hunt, 2005). La sensibilité accrue à l'oxydation de la myoglobine pendant la congélation pourrait assombrir la couleur de la viande, entraînant une diminution des valeurs (L^*) (Farouk et Swan, 1998; Fernandez et al., 1996). D'autres facteurs peuvent influencer en particulier après de longues périodes de stockage en favorisant un assombrissement marqué avec diminution de la luminance (L^*) comme la déshydratation de la couche superficielle de la viande lors d'un stockage à long terme (Zhu et Brewer, 1998), ou par une fluctuation de température au cours du processus de stockage (Li et al., 2017).

D'après Figure 34, on peut remarquer que les valeurs de (a^*) étaient significativement plus faibles à 10 mois de stockage congelé ($P < 0.05$). Alors, Hansen et al. (2004) ont signalé une diminution des valeurs de (a^*) après 30 mois de stockage congelé. Par contre dans l'étude de Medić et al.(2018), ils ont remarqué qu'une diminution des valeurs (a^*) congelés jusqu'à 4ème mois et une augmentation au 6^{ème} mois de conservation congelée. Alonso et ses collaborateurs (2016) ont souligné que la diminution des valeurs (a^*) pourrait être une conséquence de la dénaturation de la myoglobine lors de la congélation. Contrairement aux résultats de la présente étude, Daszkiewicz et al.(2018a) n'ont pas trouvé de différences dans les valeurs (a^*) des échantillons de viande ovine de la race Kamieniec congelée pendant une durée de 12 mois.

La valeur(b^*) était la plus basse dans les échantillons frais et elle augmentait significativement avec l'augmentation du temps à partir du 6^{ème} mois ($P < 0,05$), atteignant sa valeur la plus élevée à 12 mois de stockage (Figure 34). Des études ont rapporté des résultats similaires Hansen et al. (2004); Vieira et al. (2009); Fernandes et al. (2013) et Coombs et al.(2017) dans lesquels l'augmentation des valeurs de la viande s'est produite lorsque la période de congélation était plus longue. Elle est peut être liée à l'accumulation de la métmyoglobine et à l'augmentation de l'oxydation lipidique en fonction de l'augmentation du temps de congélation (Estévez, 2011 et Muela et al., 2015).



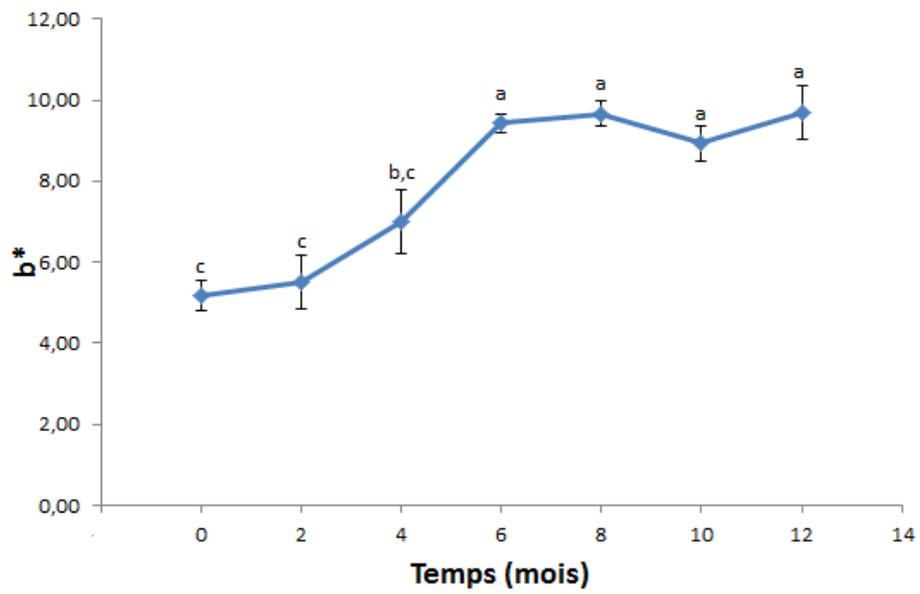
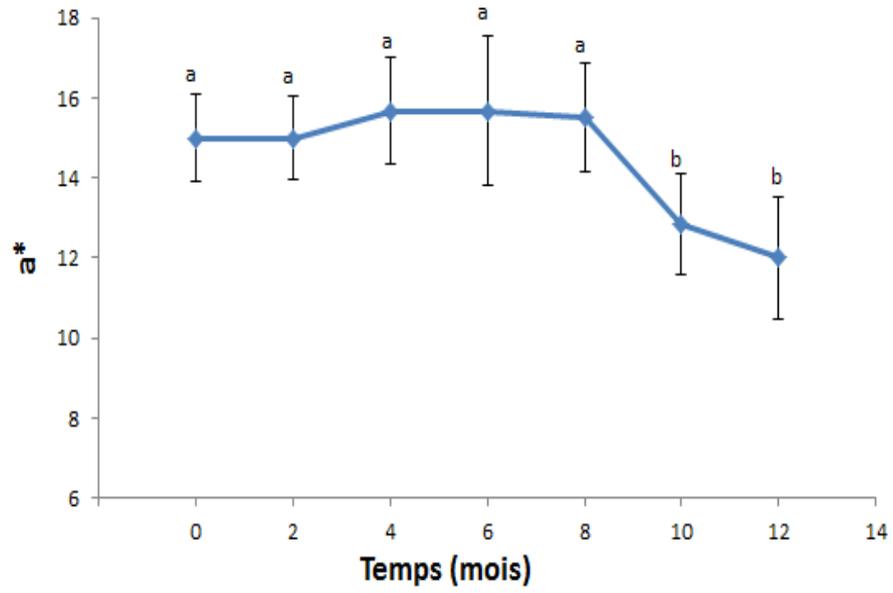


Figure 34: Effet de la congélation sur la couleur de viande
 (a, b et c indiquent une différence significative des valeurs de couleur de la viande)

1.4 Conductivité électrique

La conductivité électrique de la viande bovine fraîche et des échantillons décongelés à 2, 4, 6, 8, 10 et 12 mois de congélation sont illustrés dans la Figure 35. Les résultats ont montré que la conductivité électrique des viandes fraîches était significativement plus basse que celle des viandes décongelées quel que soit le temps ($p < 0,05$). Comparant à notre résultat, He et al. (2015) ont signalé une augmentation de la conductivité électrique dans la viande de poisson congelé pendant 64 jours.

La conductivité électrique peut être utilisée pour évaluer la teneur en eau et les caractéristiques du tissu musculaire (Pöldvere et al., 2016) et l'intégrité des membranes cellulaires (Byrne et al., 2000). Les membranes cellulaires sont intactes dans la viande fraîche, mais dans les échantillons congelés-décongelés, les membranes cellulaires sont détruites (Leygonie et al., 2012). La destruction des membranes cellulaires augmente la quantité d'électrolytes libres dans le tissu, augmentant sa conductivité (Fuentes et al., 2013). Cependant, Damez et al. (2008) ont noté que la conductivité électrique des tissus biologiques change beaucoup plus lentement pendant la congélation. La croissance des cristaux de glace, la dénaturation des protéines, l'oxydation des lipides et les fuites de liquide des tissus de viande pendant la congélation pourraient contribuer à l'augmentation de la conductivité dans les tissus biologiques (Wei et al., 2017).

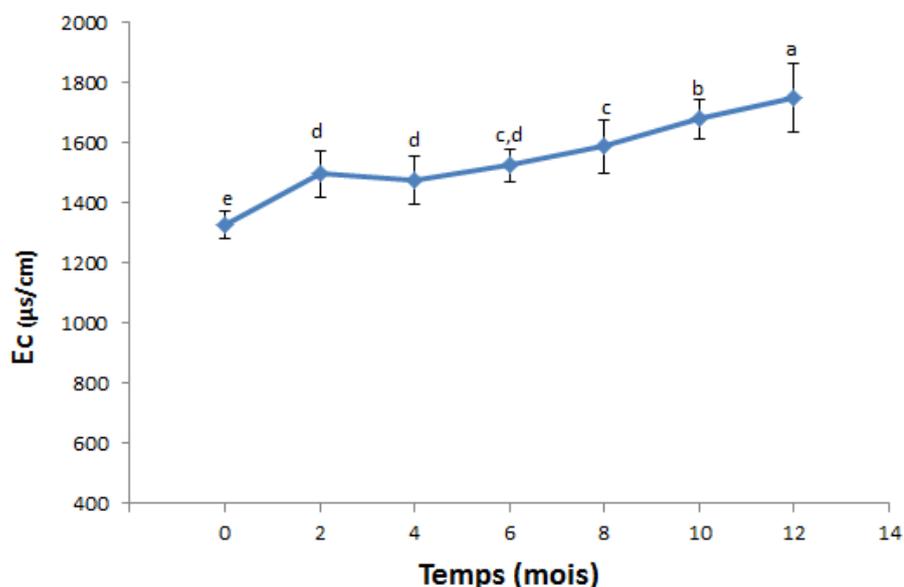


Figure 35: Effet de la durée de congélation sur la conductivité électrique de la viande.

(a, b, c, d et e indiquent une différence significative des valeurs de conductivité électrique de viande)

1.5 Oxydation des lipides

La valeur TBARS est l'un des principaux indicateurs de l'oxydation des lipides dans les aliments (Turgut et al., 2017). Ce paramètre nous permet de détecter les produits d'oxydation secondaires dérivés de la dégradation des acides gras polyinsaturés et contribuent aux saveurs désagréables des produits à base de viande (Sun et al., 2019). L'oxydation lipidique du muscle congelé a été évaluée en mesurant le TBARS. Comme le montre la Figure 35, les valeurs de TBARS étaient de 0,172 mg de malondialdéhyde / kg à j0 puis elles ont augmenté de manière significative ($p < 0,05$) au cours du temps de congélation par rapport à l'état frais et elles ont atteint les valeurs maximales de stockage congelé à 12 mois (0,87 mg de malondialdéhyde / kg). Bien qu'aucune analyse sensorielle n'ait été réalisée dans la présente étude, Les valeurs finales de TBARS obtenues dans cette étude n'ont pas dépassé le seuil de saveur ($> 1,0$ mg de malondialdéhyde / kg) au-delà duquel une odeur et un goût rances indésirables pouvaient être attendus (Kolsarıcı et al., 2010; Ripollet al., (2011).

Cette augmentation de TBARS pourrait être expliquée par le fait que le processus de congélation n'interrompt pas complètement les réactions enzymatiques, principalement hydrolytiques, qui sont l'une des principales causes de perte de qualité de la viande pendant le stockage (Igene et al., 1979; Zhang et al., 2005). De plus, pendant le stockage congelé, la croissance des cristaux de glace perturbe l'intégrité des cellules musculaires et les précurseurs

oxydants à l'intérieur de la cellule sont libérés accélérant ainsi la réaction d'oxydation (Monahan et al., 1994). L'oxydation des lipides peut également entraîner une détérioration de couleur (Pinheiro et al., 2019), un goût de rancidité (Soyer et al., 2010) et une perte de la valeur nutritionnelle (vitamines et acides gras) de la viande (Gray et al., 1996). En outre, L'oxydation des lipides peut provoquer la dénaturation des protéines, qui modifiera la structure des protéines, provoquera leur scission peptidique (Saeed et Howell, 2002), modifiera les propriétés fonctionnelles des protéines, telles que la capacité de rétention d'eau (Cao et al., 2017 ;Zhou et al., 2018).

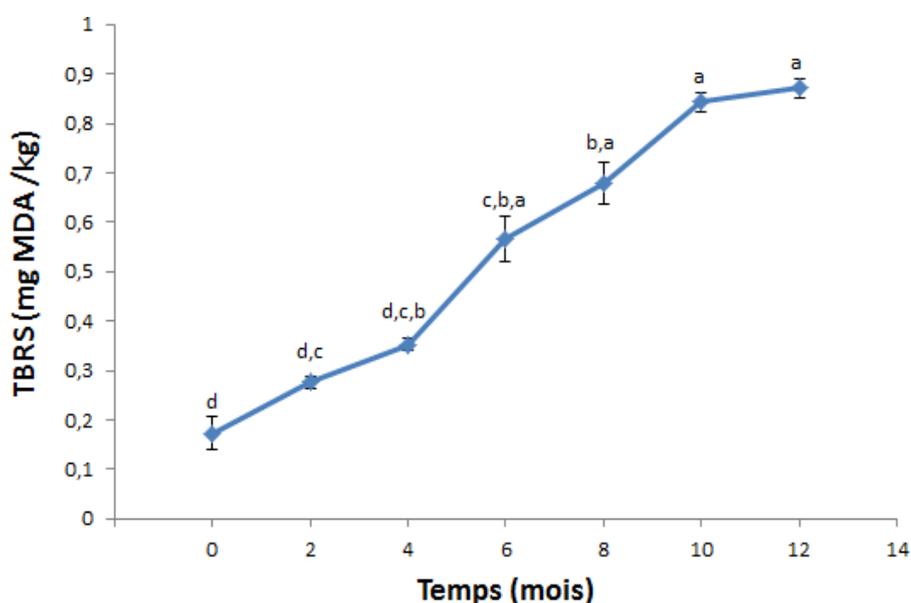


Figure 36: Effet de la durée de congélation sur l'oxydation des lipides de viande.

(a, b, c et d indiquent une différence significative des valeurs de l'oxydation lipidique de viande)

1.6 Solubilité des protéines

Comme la solubilité des protéines porte une grande importance dans l'industrie alimentaire (Farouk et Swan, 1998). Il est rapporté que la solubilité des protéines a été largement utilisée comme un bon indicateur de la dénaturation des protéines (Chan et al., 2011 ; Nahar et al., 2014). Avec l'augmentation du temps de congélation, la solubilité des protéines dans les échantillons de viande bovine décongelés a connu une tendance significative ($p < 0,05$) à diminuer (Figure 37). La solubilité des protéines est passée de 111,65mg/g au début du stockage à 77,25mg/g vers la fin du stockage.

Une réduction similaire de la solubilité des protéines de la viande de poulet et de bœuf congelées ont été signalés par Nahar et al. (2014) et Farouk et al. (2004) respectivement. Chan et ses collaborateurs (2011) ont déclaré que la congélation provoque une réduction significative de la solubilité totale des protéines, et cette réduction peut être liée à l'instabilité des protéines due au comportement d'agrégation pendant le processus de congélation.

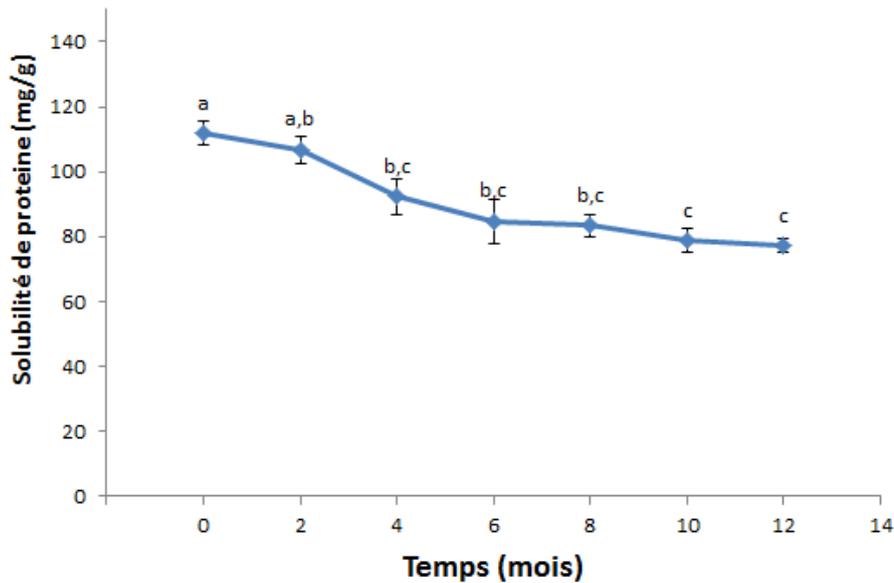


Figure 37: Effet de la durée de congélation sur la solubilité des protéines de viande.

(a, b et c indiquent une différence significative des valeurs de l'oxydation lipidique de viande.)

1.7 Perte à la décongélation

La mesure de perte à la décongélation fait partie des tests simples utilisés pour refléter la diminution de la capacité des protéines musculaires à réabsorber l'eau après la décongélation de la viande (Chevalier et al., 2000).

Dans notre étude, la perte à la décongélation a globalement augmenté significativement ($P < 0,05$) pendant la période de stockage dans le muscle de viande bovine et atteint une valeur maximale de 7,93 % à 12 mois de stockage (Figure 38). Des résultats similaires ont été observés dans les travaux de Zequan et al. (2019) ; Daszkiewicz et al. (2018b) ont remarqué que les pertes à la décongélation sont augmentées proportionnellement à la période de stockage

congelé. La perte à la décongélation est liée, à la position, à la taille des cristaux de glace et à l'intégrité des tissus musculaires (Zhanget al., 2019; Kim et al., 2015).

En revanche, au cours du processus de décongélation, dans l'espace extracellulaire, l'eau gèle et les cristaux de glace grossissent, ce qui exacerbe leur effet destructeur sur l'ultrastructure musculaire (Daszkiewicz et al., 2018b). Rahelić et al. (1985) ont signalé que la croissance des cristaux de glace augmente proportionnellement avec l'augmentation de la durée de conservation de viande conduisant à la distorsion de la structure des tissus et des dommages physiques.

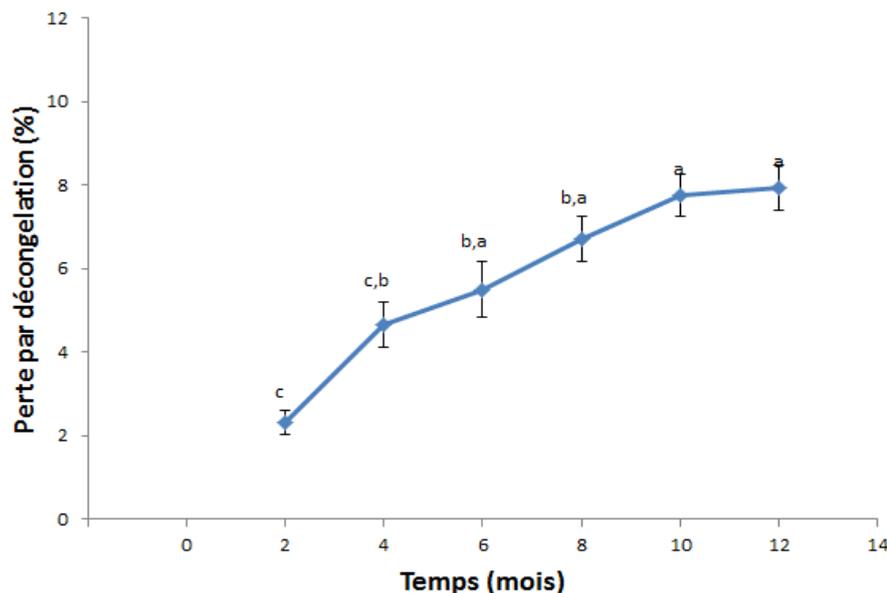


Figure 38: Effet de la durée de congélation sur la perte à la décongélation de la viande.

(a, b et c indiquent une différence significative des valeurs de l'oxydation lipidique de viande)

1.8 Perte par cuisson

Selon la Figure 39, les pertes par cuisson des échantillons ont présenté des tendances similaires à celles des pertes par décongélation. La viande congelée / décongelée s'est caractérisée par des pertes de cuisson plus élevées que la viande fraîche (38,15 %) en accord avec Farouk et al. (2004), Vieira et al. (2009) et Muela et al., (2015). La durée de la conservation congelée a eu d'influence significative ($P > 0,05$) sur les pertes par cuisson, qui avaient cependant tendance à être plus élevées dans la viande décongelée conservée pendant 12 mois (44,4%). En général, les produits à faible perte de cuisson peuvent avoir une meilleure

qualité alimentaire (Aaslyng et al., 2003) et les valeurs plus élevées de la viande décongelée pourraient être liées à l'altération tissulaire susmentionnée due à la formation de cristaux de glace lors du processus de congélation.

Il convient de noter que le volume de la perte par cuisson comprend généralement un mélange de substances liquides et solubles provenant du muscle pendant la cuisson (Hong et al., 2011). Par conséquent, les différences dans la teneur en matières grasses et en protéines de la viande peuvent être en partie responsables de la quantité de perte de cuisson, qui a été rapportée par Ablikim et al. (2016).

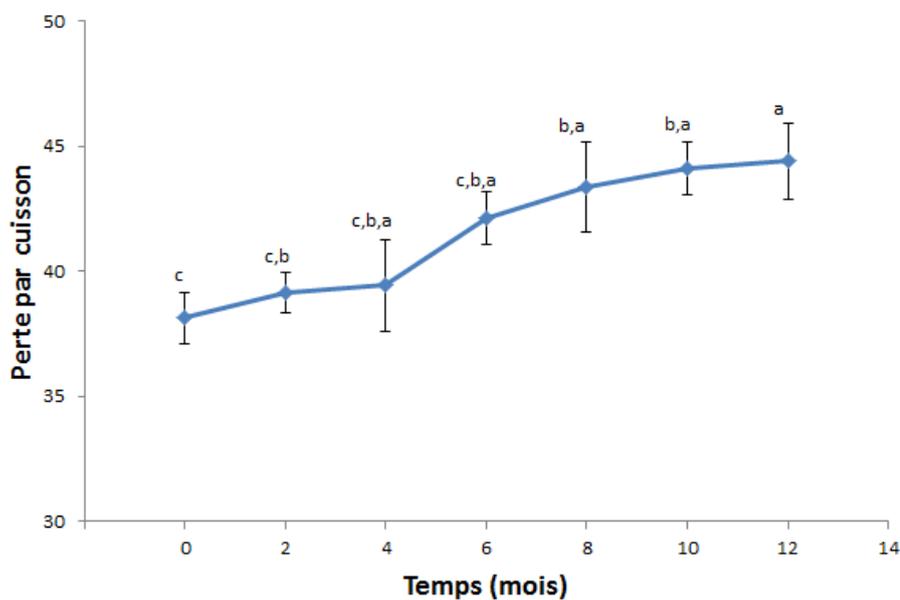


Figure 39: Effet de la durée de congélation sur la perte par cuisson de viande.

(a, b et c indiquent une différence significative des valeurs de l'oxydation lipidique de viande)

2 ÉTUDE HISTOLOGIQUE

2.1 Effet sur la microarchitecture des muscles

L'organisation structurelle de la composante musculaire de la viande fraîche vue en coupe transversale était bien maintenue dans son ensemble. Les fibres étaient attachées les unes aux autres en faisceaux avec peu d'espace entre elles (Figure 40). L'intégrité de la microstructure est considérée comme un paramètre important pour les aliments congelés, qui est principalement déterminée par la taille et la distribution des cristaux de glace formés pendant la congélation (Hou et al., 2020).

De nombreuses microfissures extrêmement fines dans les fibres musculaires sont interprétées comme des artefacts lors de la préparation des coupes histologiques.

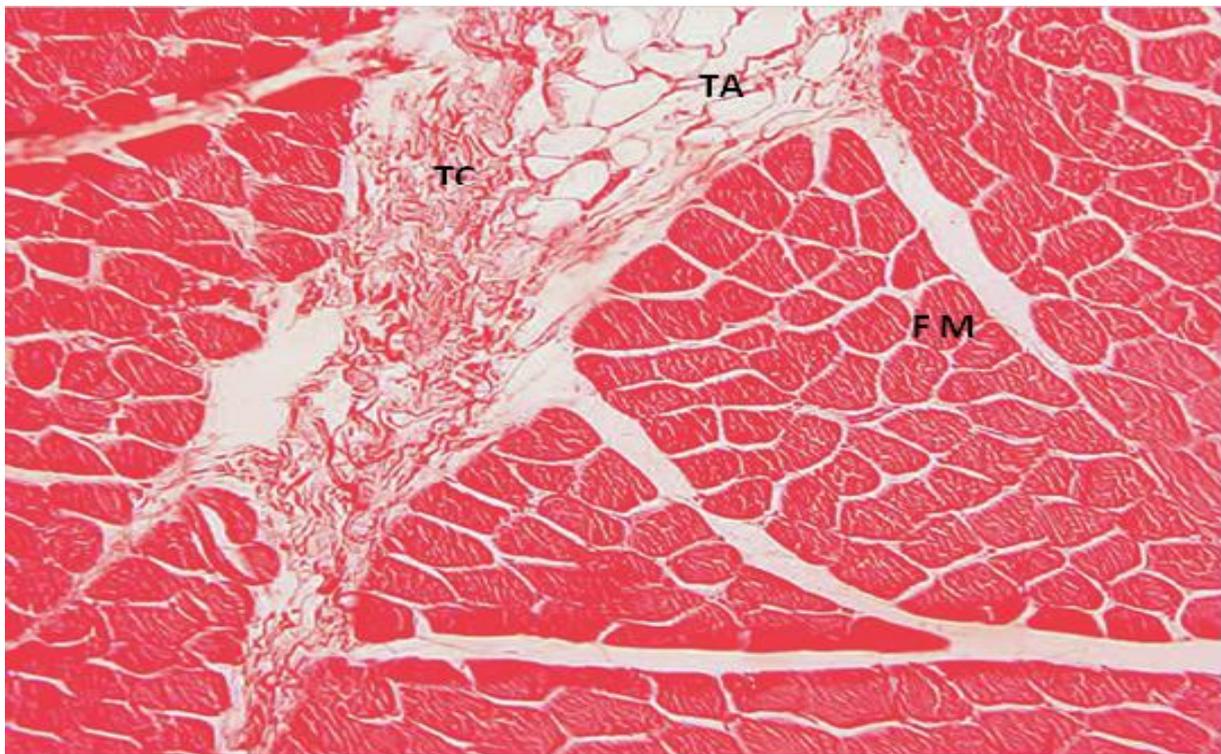


Figure 40: Coupe histologique de la viande fraîche (H&E, X100)

(TC : Tissu conjonctif, TA : Tissu adipeux, FM :Fibre musculaire)

2.2 Effet de la congélation sur les cellules musculaires

Pendant l'entreposage congelé de la viande, des changements dans la microstructure des fibres musculaires ont été observés. Au cours du deuxième mois de stockage (Figure 41), des espaces vides de petite taille qui étaient considérés comme les empreintes de cristaux de glace intracellulaires ont été remarqués dans les échantillons de la viande. Des espaces vides irréguliers et importants occupaient une partie importante des zones analysées entre les faisceaux de fibres. Très probablement, ils étaient liés au rétrécissement plus prononcé des fibres dues aux cristaux de glace qui se forment entre les fibres génèrent une pression qui sépare les fibres les unes des autres.

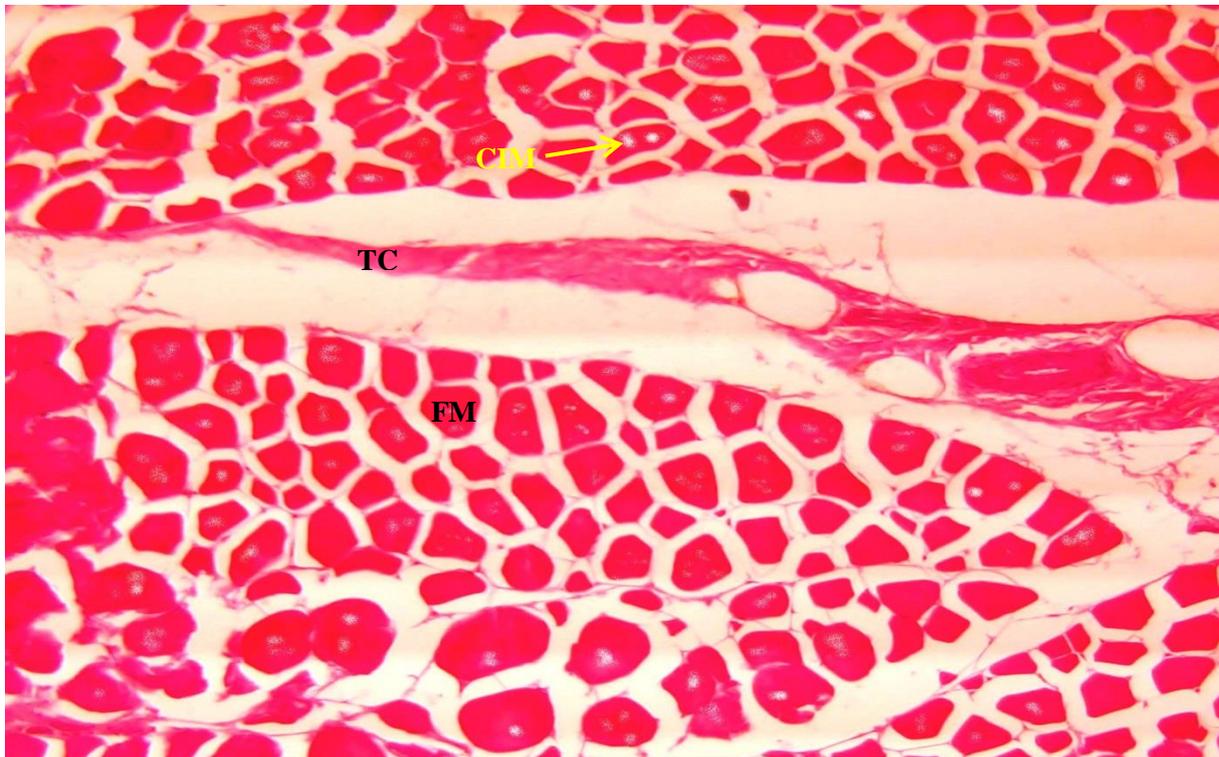


Figure 41: Coupe histologique de la viande congelée pendant deux mois (H&E, X100)

(TC : Tissu conjonctif, CIM : cristaux de glace intramusculaire, FM :Fibre musculaire)

Les dégâts, causés par les cristaux de glaces, ont été observés dans une plus grande mesure, avec la présence de fibres musculaires déchirées et des vacuoles intracellulaires (Figure 42). La formation des cristaux de glaces intracellulaires a en revanche l'inconvénient d'entraîner souvent une détérioration de la structure musculaire. En effet, lorsque l'eau se transforme en

glace, le volume augmente d'environ 9% provoquant ainsi des tensions internes et sont à l'origine de déchirures et d'une perte du contenu cellulaire (exsudation) lors de la décongélation (Kandeepan et al., 2006). Dans certaines zones, la limite périphérique des fibres musculaires reste intacte avec la présence des vacuoles intracellulaires.

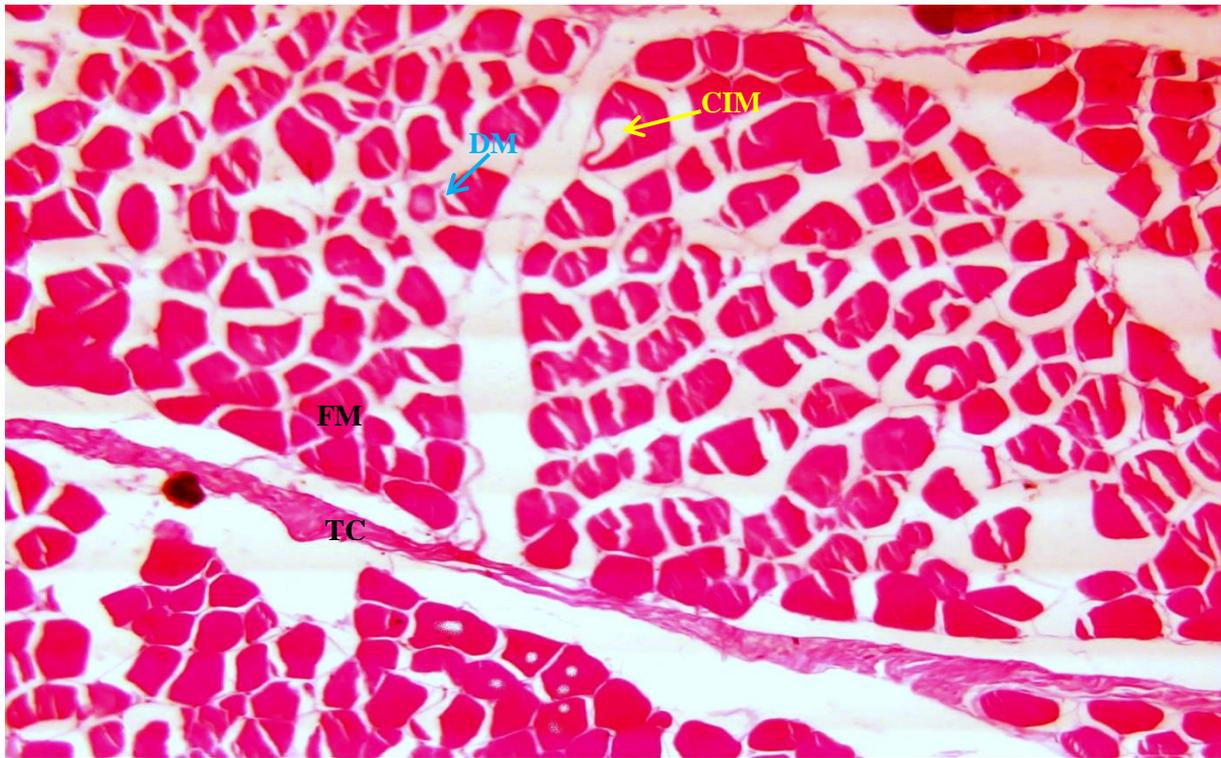


Figure 42: Coupe histologique de la viande congelée pendant quatre mois (H&E, X100)

(TC : Tissu conjonctif, CIM : cristaux de glace intramusculaire, FM :Fibre musculaire, DM :déchirure d'une fibre musculaire).

2.3 Effets de la congélation prolongée

Avec l'augmentation de la durée de conservation, les cristaux de glace intracellulaires semblaient plus gros. Dans certaines zones, des fibres musculaires ont été rétrécies par des cristaux de glace extracellulaires. Alors que d'autres zones de tissu musculaire sont complètement déstructurées et déformées dans lesquelles les bordures de fibres n'ont pas pu être identifiées (Figure 43,44, 45, 46).

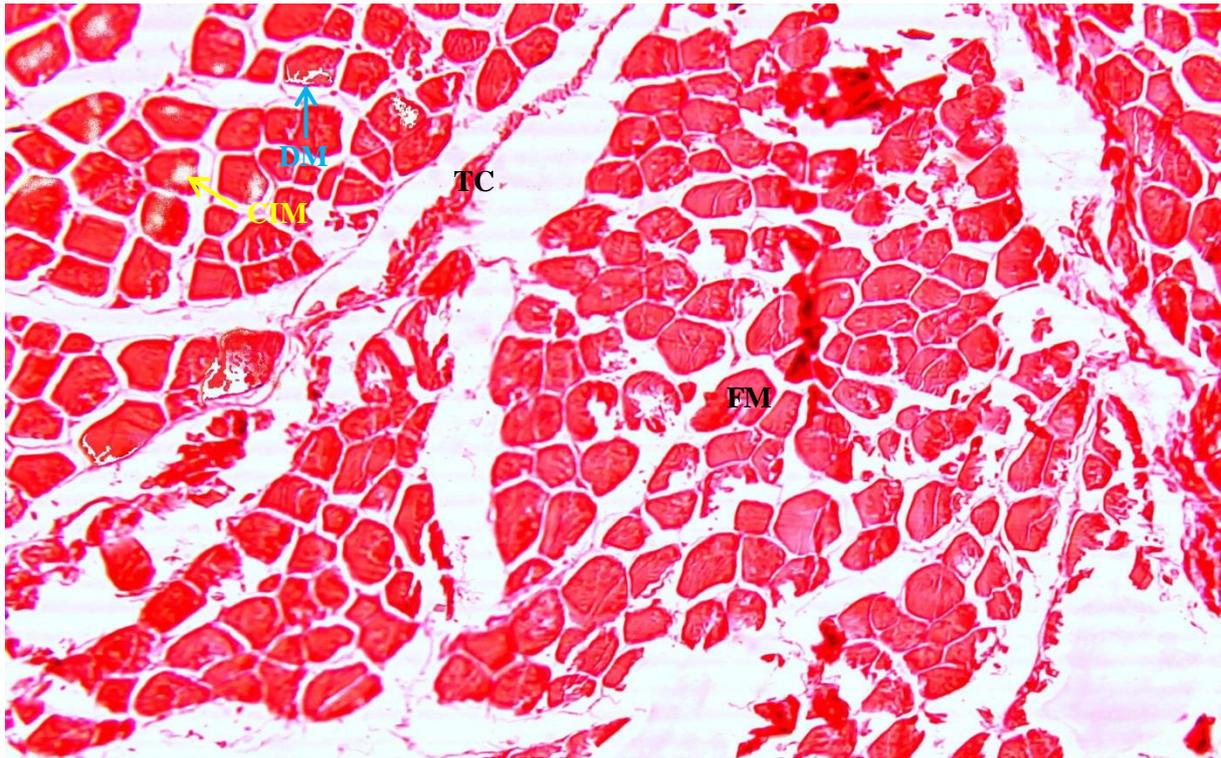


Figure 43: Coupe histologique de la viande congelée pendant six mois (H&E, X100)

(TC : Tissu conjonctif, CIM : cristaux de glace intramusculaire, FM :Fibre musculaire, DM :déchirure d'une fibre musculaire).

En règle générale, abaisser la température de stockage est un moyen bénéfique de maintenir la qualité des productions de viande pendant un stockage de longue durée (Zhang et al., 2019a). Cependant, la cristallisation de l'eau à l'intérieur du tissu pourrait entraîner une destruction de la cellule et une augmentation de la concentration de soluté pendant le stockage congelé (Tolstorebrov et al., 2016), puis la séparation de l'endomysium et l'expansion du périmysium, qui étaient spécifiquement exprimées comme le rétrécissement de la surface cellulaire et l'augmentation de l'espace extracellulaire (Shi et al., 2018).

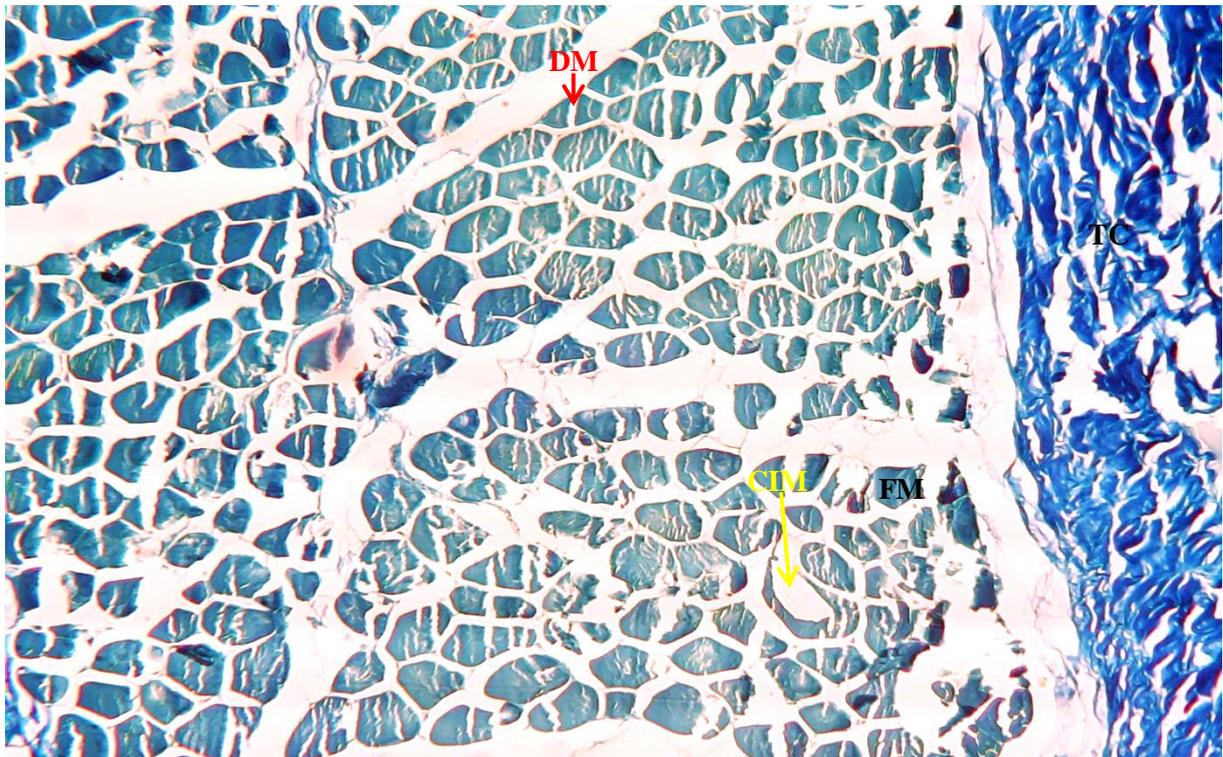


Figure 44: Coupe histologique de la viande congelée pendant huit mois (Calleja, X100)

(TC : Tissu conjonctif, CIM : cristaux de glace intramusculaire, FM : Fibre musculaire, DM : déchirure d'une fibre musculaire).

Au fur et à mesure que les cristaux de glace se développent dans l'espace extracellulaire, les solutés deviennent progressivement plus concentrés dans l'eau non congelée (Ohta et Tanaka, 1978). L'exposition des fibres musculaires à des solutés concentrés dans la zone extracellulaire pendant une longue durée durant la congélation produirait une pression osmotique extracellulaire plus élevée tirant l'eau à l'intérieur des fibres musculaires vers l'extérieur, entraînant éventuellement un rétrécissement transversal des fibres musculaires et une déshydratation ultérieure avec l'augmentation de l'espace entre les fibres musculaires.

Yang et al, (2019) ont suggéré que la raison de la croissance des cristaux de glace intracellulaires pendant l'entreposage congelé pourrait être due à la fluctuation de la température, ou la diffusion de l'eau à une température constante. Plus précisément, en ce qui concerne les changements de température, les gradients de température provoqueraient une légère fonte de petits cristaux de glace à la couche de surface et la diffusion subséquente de l'eau vers de plus gros cristaux de glace à l'intérieur ; ou à une température constante, la vapeur d'eau serait transférée des régions de haute pression à celle de basse pression connue sous le nom de maturation d'Ostwald, conduisant ainsi à une recristallisation pendant le stockage congelé

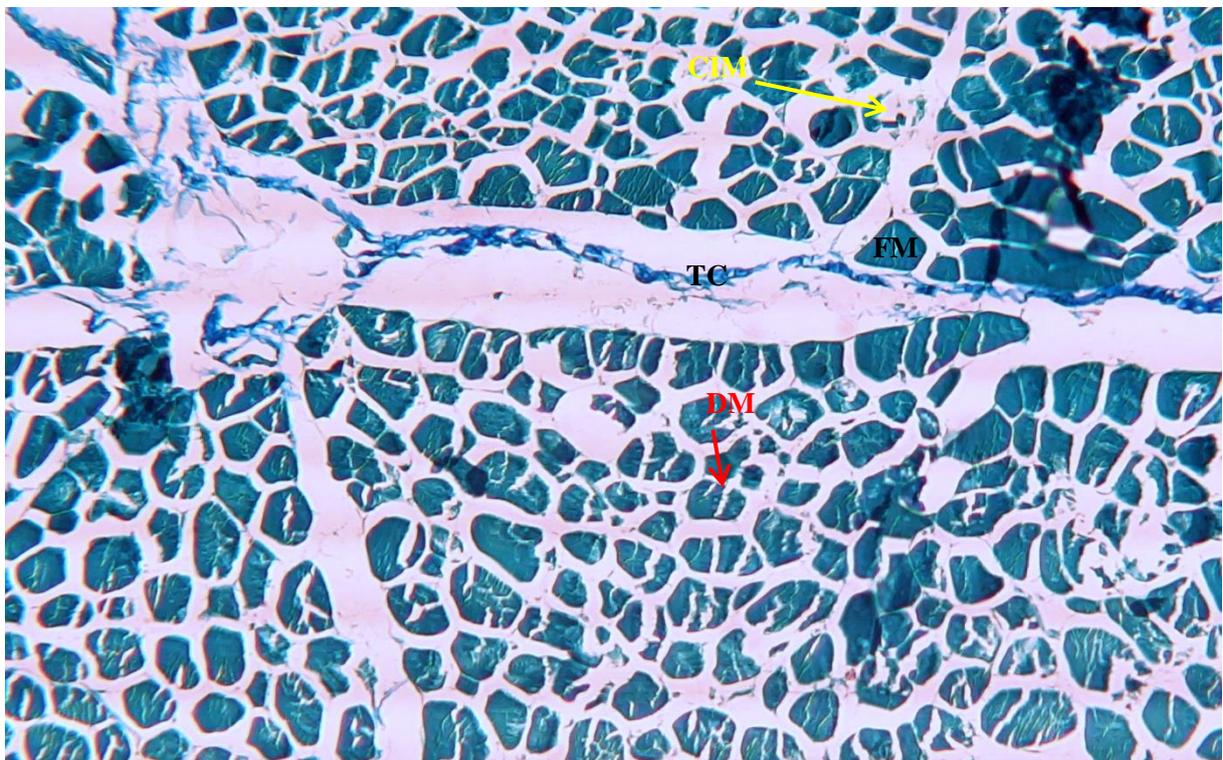


Figure 45: Coupe histologique de la viande congelée pendant dix mois (Calleja, X 100)

(TC : Tissu conjonctif, CIM : cristaux de glace intramusculaire, FM : Fibre musculaire, DM : déchirure d'une fibre musculaire).

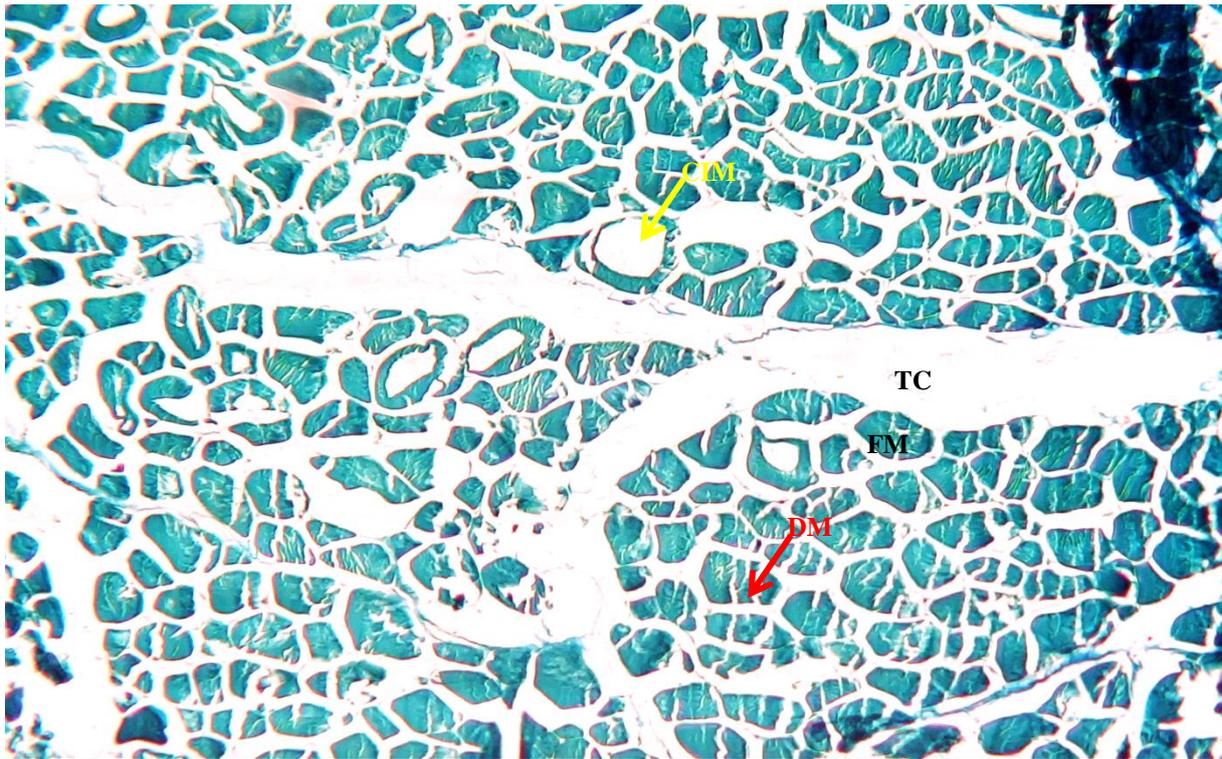


Figure 46: Coupe histologique de la viande congelée pendant douze mois (Calleja, X100)

(TC : Tissu conjonctif, CIM : cristaux de glace intramusculaire, FM :Fibre musculaire, DM : déchirure d'une fibre musculaire).

3 ANALYSES HISTOMORPHOMÉTRIQUES

3.1 Diamètre des cristaux de glace

Le diamètre équivalent des cristaux de glace et le rapport de la surface totale des cristaux de glace à la surface de la cellule ont été calculés pour effectuer une analyse quantitative des cristaux de glace avec l'augmentation du temps de congélation. Les résultats ont été exprimés sur la Figure 47.

Le diamètre équivalent des cristaux de glace a augmenté de 29,09 μm après 2 mois à environ 39,35 μm à 12 mois de congélation avec une différence significative ($p > 0,05$) et la même tendance a été trouvée dans le rapport de la surface de la somme des cristaux de glace à celle de la surface cellulaire de tous les échantillons congelés dont la moyenne était estimée entre 31,77 et 36,46 % pendant le stockage congelé.

L'augmentation de la taille des cristaux de glace était due à la recristallisation pendant le stockage congelé (Jiang et al., 2020). Par conséquent, la légère fusion de petits cristaux de glace entraînerait une nouvelle formation de gros cristaux de glace dans le stockage ultérieur

(Payne et al. 1994). Pour cette raison, la quantité des cristaux de glace et le rapport entre la surface des cristaux de glace et la surface de la cellule ont été significativement augmentés (Figure 47).

L'augmentation du volume des cristaux de glace provoque de graves dommages mécaniques à la viande, ce qui a conduit à l'augmentation de la concentration de liquide non congelé à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule, et entraîne ainsi une augmentation des pertes à la décongélation et de la migration extracellulaire de l'eau (Shi et al., 2018; Jiang et al., 2020). De plus, lorsque des cristaux de glace se forment, il y a une augmentation de la concentration de soluté dans l'eau restante, ce qui entraîne une plus grande dénaturation des protéines (Kaale et Eikevik, 2016).

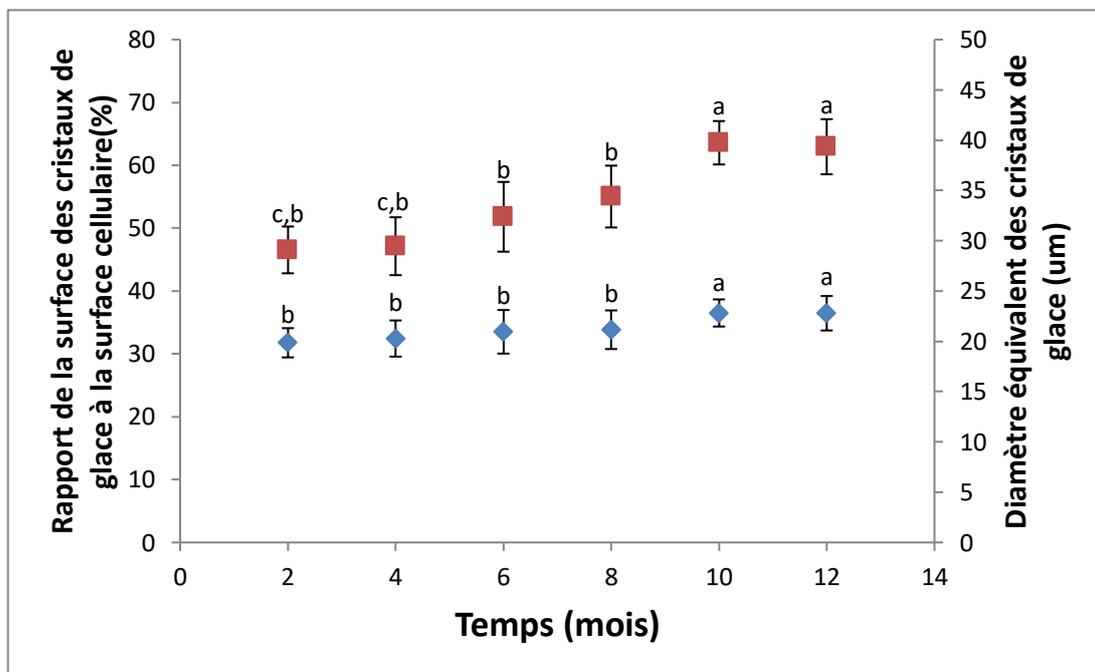


Figure 47: Effet de la durée de congélation sur l'équivalent du diamètre des cristaux de glace et sur le rapport de la surface relative des cristaux de glace.

■ : Diamètre équivalent d'un cristal de glace, ◆ : Rapport de la surface des cristaux de glace à la surface de la cellule.

3.2 Dimension fractale

La dimension fractale est un paramètre géométrique (Gonzales-Barron et Butler, 2008), elle est considérée comme une méthode analytique quantitative pour évaluer de nombreux types

de formes complexe, convenable pour mesurer les changements de structures à une certaine échelle (Pfeifer et al., 1989; He et al.,2017). Dans notre recherche, cette méthode a été adoptée pour l'analyse de la morphologie de particules des cristaux de glace. Les relations typiques entre log P (périmètre) et le log S (surface) à différentes périodes de stockage sont illustrées à la Figure 48 Les coefficients de détermination (R^2) étaient compris entre 0,87 et 0,95. Les échantillons stockés pendant 6 mois (Figure. 48C) ont indiqué une précision relativement plus élevée pour la ligne d'ajustement par rapport à ceux des échantillons à d'autres périodes ($R^2=0,95$).

Il n'y a pas d'explications claires pour ces écarts; cependant, à partir de nombreuses études de recherche sur le comportement de croissance des particules de cristaux de glace dans les aliments, il a été démontré qu'il existe plusieurs mécanismes de croissance des cristaux de glace pendant le stockage, tels que la recristallisation migratoire ou la recristallisation par accréation (Zhu et al., 2019). La recristallisation par accréation dominait lorsque les cristaux étaient petits et rapprochés, tandis que la recristallisation migratoire se produisait principalement lorsque les cristaux se développaient et se séparaient (Sutton et al., 1996). Ces résultats suggèrent que la différence dans le mécanisme de croissance peut entraîner un changement morphologique des cristaux de glace, entraînant un léger écart par rapport à un comportement linéaire.

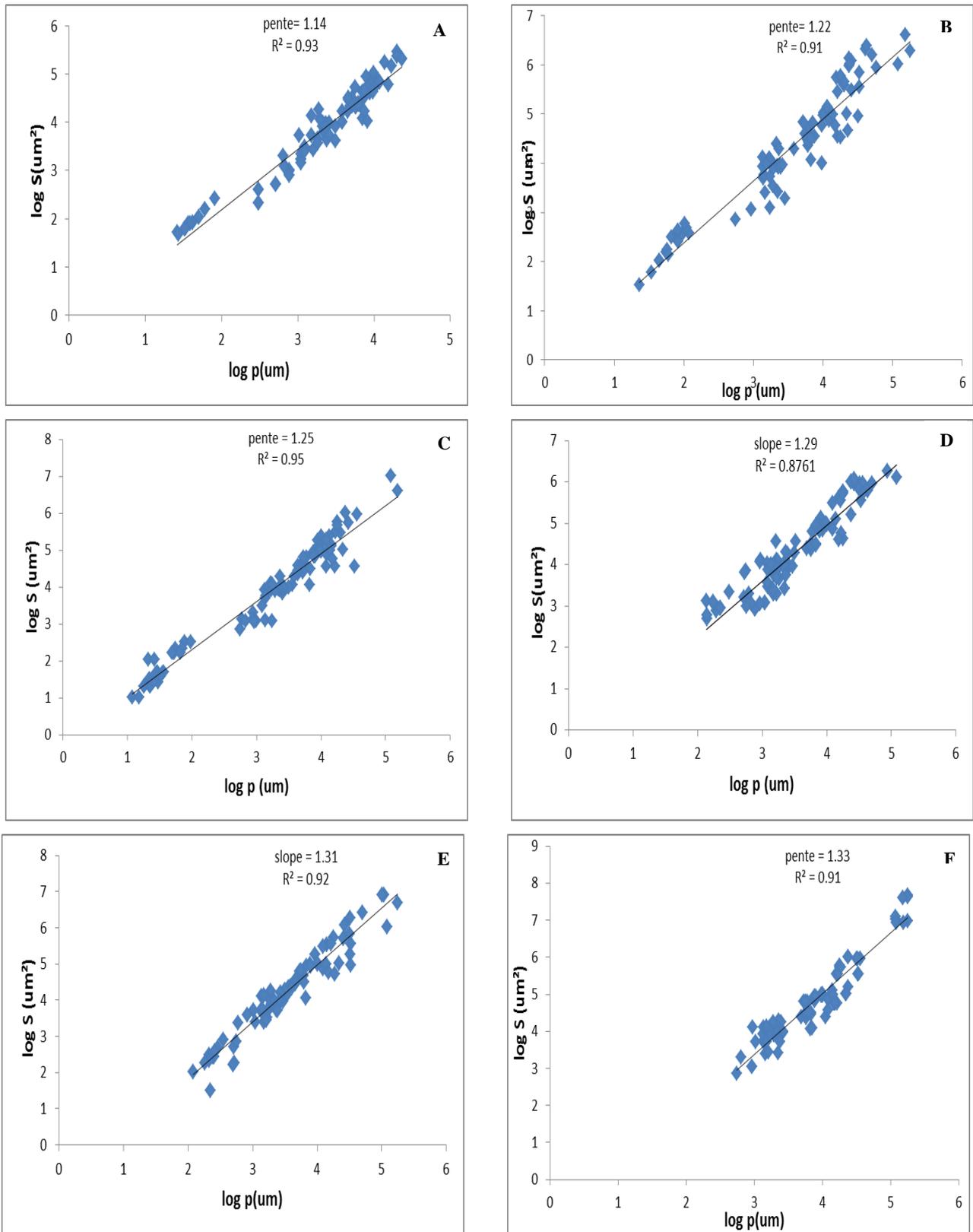


Figure 48: Tracés de $\log S$ vs $\log P$ à différentes périodes de stockage.

(A) congélation pendant 2 mois, (B) congélation pendant 4 mois, (C) congélation pendant 6 mois, (D) congélation 8 mois, (E) congélation pendant 10 mois, (F) congélation pendant 12 mois.

La dimension fractale obtenue par la méthode surface-périmètre d'une image transversale des coupes histologiques est illustrée à la Figure 49. Les résultats de la dimension fractale ont montré une tendance à la baisse avec l'augmentation du temps de stockage congelé. La valeur initiale de la dimension fractale dans les coupes analysées pendant deux mois de stockage était de 1,754, puis on a remarqué qu'elle diminuait avec l'augmentation de la période de stockage, et ceci en le mesurant tous les deux mois et après la fin de la période de stockage, la valeur atteint 1,503.

Ce qui a été démontré plus récemment par Wanget al. (2022) que les valeurs de la dimension fractale ont diminué de 8,79 %, 4,53 % et 3,03 % à -20°C, -40°C et -80°C après 270 jours de stockage de poisson respectivement. De même que dans le travail de Luan et al. (2018) qui ont constaté que la dimension fractale des tissus de tilapia congelés diminuait de 1,968 à 1,539, 1,682, 1,856 et 1,896 congelés à -5°C, -20°C, -40°C et -80°C respectivement pendant 49 jours.

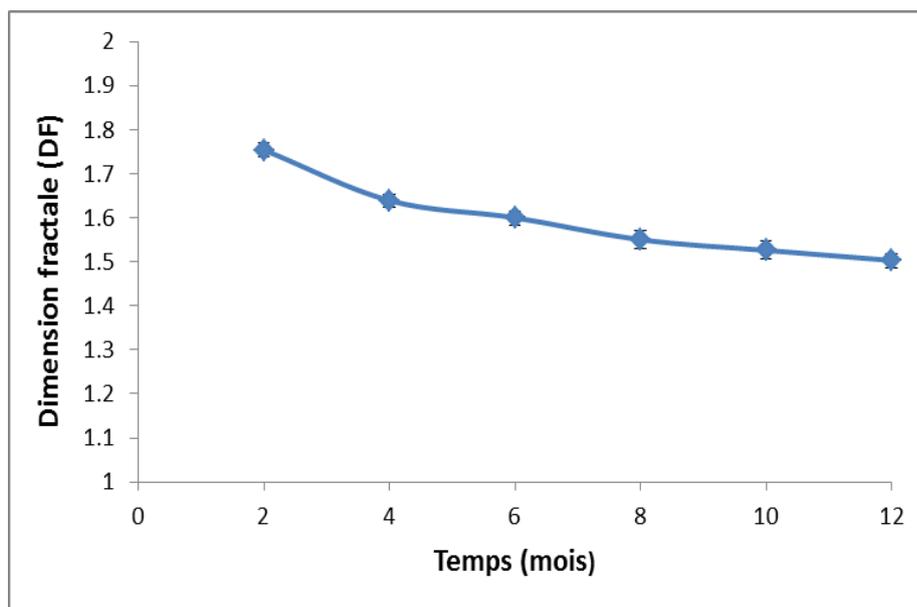


Figure 49: Effet de la durée de congélation sur la valeur de la dimension fractale

4 ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES (ACP)

L'analyse en composantes principales (ACP), est l'une des méthodes d'analyse statistique de données multivariées les plus utilisées (Aubourg, 1999). Elle vise à étudier et à visualiser des corrélations entre les variables, afin d'éventuellement limiter le nombre de variables à mesurer par la suite (Ghosh et Chattopadhyay, 2012). L'ACP est principalement utilisée pour extraire les principaux composants de nombreux indicateurs de qualité afin d'améliorer l'efficacité de l'analyse, et elle a été largement utilisée dans l'analyse de la qualité de viande et de poisson (Peyvasteh et al., 2020 ; Chen et Feng, 2020 ; Jiang et al., 2020 ; Tournour et al, 2017).

Comme le montre le tableau 05, les résultats de l'ACP ont révélé que 94,181 % de la variance totale des données étaient attribuables à 85,489 % de CP₁ et à 8,695 % de CP₂, Cela suggérerait qu'il y avait une grande relation entre la durée de congélation et la qualité de la viande.

Tableau 5: Analyse en composantes principales

Paramètres	Composantes	
	CP ₁ (85,489 %)	CP ₂ (8,695 %)
pH	0,965	0,166
aw	-0,905	-0,298
(L*)	-0,930	-0,269
(a*)	-0,557	0,825
(b*)	0,942	0,200
Ec	0,962	-0,195
Perte à la décongélation	0,995	0,028
Perte de cuisson	0,965	-0,119
Solubilité de protéines	-0,988	-0,073
TBARS	0,972	-0,190
Diamètre des cristaux	0,887	0,131
Dimension fractale	-0,946	0,147

D'après la Figure 50, la CP₁(85,489%) était positivement corrélée avec quelques paramètres physico-chimiques, y compris pH, Ec, TBARS, (b*), perte à la décongélation et perte de cuisson, tandis qu'elle était négativement corrélée avec (L*), (a*), aw, et la solubilité de protéines. Concernant les paramètres histomorphométriques, on remarque que le diamètre des cristaux de glace a été positivement corrélé à CP₁ et l'inverse pour la dimension fractale. De même, la deuxième composante principale (CP₂), qui explique 8,69% de la variabilité totale, était négativement corrélée avec la solubilité de protéines, (L*) et aw.

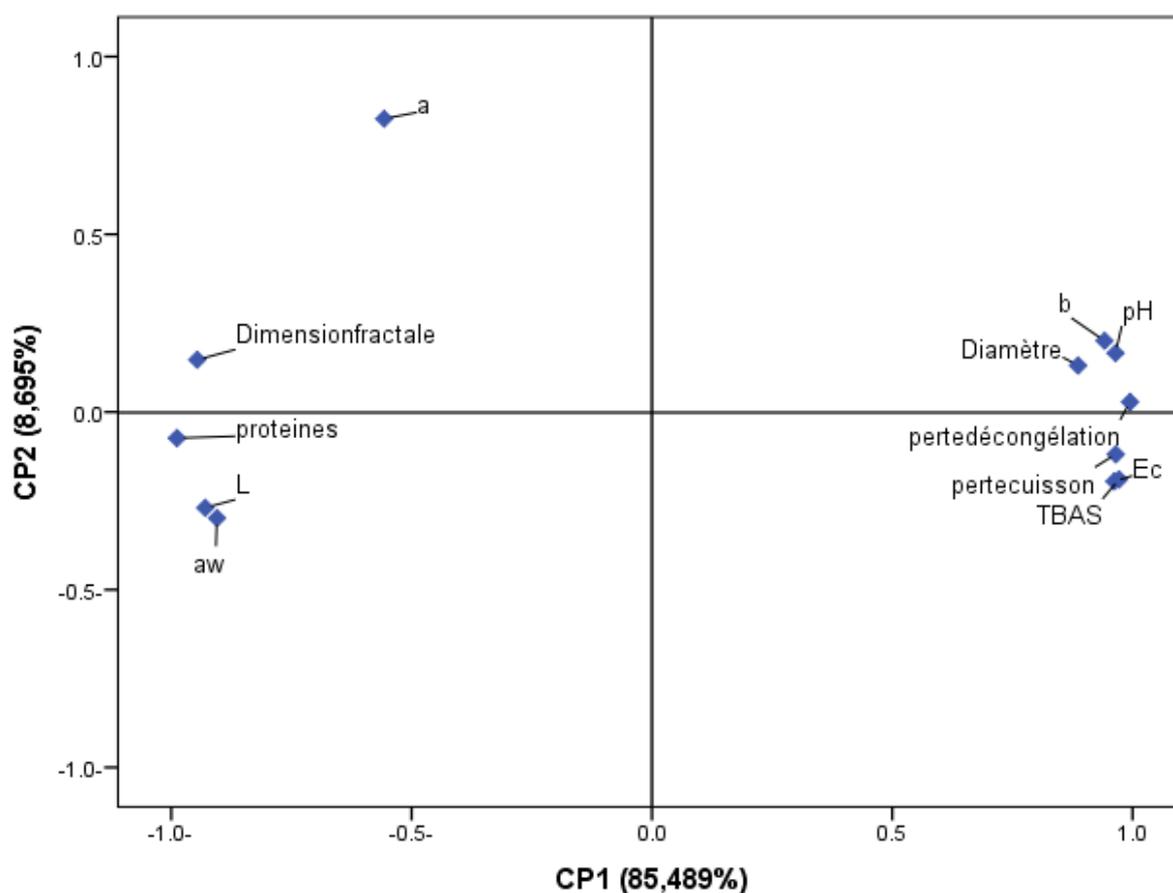


Figure 50: Analyse en composantes principales (ACP) des propriétés des viandes bovines congelés pendant n mois (n = 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12).

CONCLUSION

CONCLUSION

La viande bovine est une source majeure de protéines essentielles à la santé humaine, et les consommateurs congèlent généralement la viande après l'avoir achetée pour gérer l'approvisionnement en viande. Contrairement aux idées reçues, une viande congelée n'est pas stable. Certes, sa stabilité microbiologique est acquise mais le produit reste le siège de réactions physiques et biochimiques susceptibles de compromettre ses qualités organoleptiques à long terme.

Dans ce contexte, les résultats de notre étude montrent qu'il est important de considérer qu'il y a des modifications et des altérations qui intéressent la couleur de la viande, l'oxydation des lipides, la capacité de rétention d'eau et qui sont plus évidentes lorsque le stockage est plus long. En plus de ces altérations, d'autres paramètres de la qualité telle que la solubilité des protéines de la viande, représentant un indicateur de dénaturation des protéines après la décongélation, a diminué avec l'augmentation de la durée du stockage. Ces types de modifications sont indésirables et ne répondent pas aux exigences du consommateur lors de l'achat, de la préparation et de la consommation ultérieure du produit.

La compréhension des changements de la microstructure est un facteur clé pour comprendre les changements affectant la qualité. Nous avons utilisé les techniques histologiques pour une meilleure visualisation des cristaux de glace et les changements de microstructure dans le tissu de viande lors de l'entreposage congelé. L'application des progrès technologiques récents, comme l'utilisation des logiciels récents du traitement et d'analyse d'images ont révélé que la distribution de la taille des cristaux de glace s'est élargie tout au long du stockage et que la taille moyenne des cristaux a augmenté. L'analyse quantitative des cristaux de glace a suggéré que le mécanisme de fusion-recristallisation était responsable de la croissance des cristaux de glace dans le tissu de la viande congelée lors de l'augmentation de la durée de congélation. Cela a provoqué des changements microstructuraux qui sont directement liés à la qualité finale de la viande congelée.

**RECOMMENDATIONS
ET
PERSPECTIVES**

RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES

En gardant à l'esprit, les limites des systèmes de réfrigération commerciaux et domestiques ; Il est important de souligner la nécessité de sensibiliser les consommateurs et les restaurateurs au danger de la congélation de la viande pendant une période plus longue, afin de protéger la santé du consommateur. Notant également la nécessité de rechercher des stratégies qui permettent un contrôle plus précis dans les grands et petits systèmes de réfrigération.

Dans ce travail, il a été démontré expérimentalement que l'augmentation de la durée de décongélation et de stockage a un effet négatif sur la microstructure de la viande et les propriétés physico-chimiques à température constante. Cet effet serait plus prononcé, s'il serait possible d'étudier la durée de congélation avec une fluctuation de température pendant le transport et la commercialisation du produit.

L'application combinée des techniques histologiques et des programmes et des logiciels de traitement, et d'analyse quantitative d'images histologiques est nécessaire pour le contrôle des chaînes de froid et pour le contrôle des cas de fraudes.

Décrire un modèle cinétique de l'augmentation des cristaux de glace à travers le temps, qui pourrait être utilisé comme un indicateur efficace pour décrire les changements de la qualité de la viande pendant l'entreposage congelé, ce qui fournira un nouveau support théorique pour la qualité d'autres produits congelés.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aaslyng, M. D., Bejerholm, C., Ertbjerg, P., Bertram, H. C., & Andersen, H. J. (2003). Cooking loss and juiciness of pork in relation to raw meat quality and cooking procedure. *Food Quality & Preference*, 14(4), 277-288
- Ablikim, B., Liu, Y., Kerim, A., Shen, P., Abdurerim, P., & Zhou, G. H. (2016). Effects of breed, muscle type, and frozen storage on physicochemical characteristics of lamb meat and its relationship with tenderness. *CyTA – Journal of Food*, 14, 109–116
- Agnelli, M. E., & Mascheroni, R. H. (2002). Quality evaluation of foodstuffs frozen in a cryomechanical freezer. *Journal of Food Engineering*, 52(3), 257-263.
- Akkouche, S. (2013). Viandes rouges et blanches : Les Algériens en ont consommé près de 30.000 tonnes en dix jours. Consulté le [23/06/2021]. Disponible sur: <https://fr.calameo.com/read/00209554354461df564d1>
- Aktas, N., Tulek, Y., & Gokalp, H. Y. (1997). Determination of differences in free and bound water contents of beef muscle by DSC under varying freezing conditions. *Journal of Thermal Analysis*, 50, 617–624.
- Alizadeh, E., Chapleau, N., de Lamballerie, M., & Le-Bail, A., (2007). Effect of different freezing processes on the microstructure of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 8(4), 493-499.
- Alonso, V., Muela, E., Tenas, J., Calanche, J. B., Roncalés, P., & Beltrán, J. A. (2016). Changes in physicochemical properties and fatty acid composition of pork following long-term frozen storage. *European Food Research and Technology*, 242(12), 2119-2127.
- Anese, M., Manzocco, L., Panozzo, A., Beraldo, P., Foschia, M., & Nicoli, M.C., (2012). Effect of radiofrequency assisted freezing on meat microstructure and quality. *Food Research International* 46(1), 50-54.
- Añón, M. C., & Calvelo, A. (1980). Freezing rate effects on the drip loss of frozen beef. *Meat Science*, 4(1), 1-14.
- Aroeira, C. N., Torres Filho, R. A., Fontes, P. R., Gomide, L. A. M., Ramos, A. L., Ladeira, M. M., & Ramos, E. M. (2016). Freezing, thawing and aging effects on beef tenderness from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *Meat Science*, 116, 118-125.
- Astruc, T. (2014). Muscle fiber types and meat quality. In: *Encyclopedia of Meat Sciences (Second Edition)* (eds. by Dikeman M & Devine C). Academic Press, Oxford, pp. 442-448.
- Balan, P., Kim, Y. H. B., Stuart, A. D., Kemp, R., Staincliffe, M., Craigie, C., & Farouk, M. M. (2019). Effect of fast freezing then thaw-aging on meat quality attributes of lamb *M. longissimus lumborum*. *Animal Science Journal*, 90(8), 1060-1069.

- Bas, P., & Sauvant, D. (2001). Variations de la composition des dépôts lipidiques chez les bovins. *Inra Productions Animales*, 14 : 303-310.
- Bazinet, L., & Castaigne, F. (2011). *Concepts de génie alimentaire: Procédés associés et applications à la conservation des aliments*. Tec et Doc.Paris.
- Becila-ioual, S. (2009). *Marqueurs biologiques de la qualité de la viande ovine et caractérisation de la mise en place de l'apoptose* (Doctoral dissertation, thèse en vue d'obtention du diplôme de Doctorat en sciences).
- Bellés, M., Alonso, V., Roncalés, P., & Beltrán, J. A. (2017). The combined effects of superchilling and packaging on the shelf life of lamb. *Meat Science*, 133, 126-132.
- Beltrán, J. A., & Bellés, M. (2019). Effect of freezing on the quality of meat. *Encyclopedia*
- Ben Abdallah, M., Marchello, J. A., & Ahmad, H. A. (1999). Effect of freezing and microbial growth on myoglobin derivatives of beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 4093-4099.
- Berry, B. W., Smith, G. C., Spencer, J. V., & Kroening, G. H. (1971). Effects of freezing method, length of frozen storage and cookery from the thawed or frozen state on palatability characteristics of pork. *Journal of Animal Science*, 32, 636-640
- Biswas, A.K. & Mandal, P.K. (2020). Current perspectives of meat quality evaluation In Techniques, technologies, and challenges. *Meat quality analysis: advanced evaluation methods, techniques, and technologies*. Academic Press. pp. 3-17.
- Black, J. L., & Jaczynski, J. (2008). Effect of water activity on the inactivation kinetics of *Escherichia coli* O157: H7 by electron beam in ground beef, chicken breast meat, and trout fillets. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(4), 579-586.
- Bøgh-Sørensen, L. (2006). Recommendations for the processing and handling of frozen foods (4th ed.): International Institute of Refrigeration (IIR). Paris, France. pp. 8-10
- Boonsumrej, S., Chaiwanichsiri, S., Tantratian, S., Suzuki, T., & Takai, R., (2007). Effects of freezing and thawing on the quality changes of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) frozen by air-blast and cryogenic freezing. *Journal of Food Engineering* 80(1), 292-299.
- Boutouja, K. (2009). *Traitement chirurgical des lésions musculaires chez le sportif* (Doctoral dissertation).
- Boudechicha, H. R. (2014). *Khliia Ezir, un produit carné traditionnel Algérien: préparation, caractérisation microbiologique, physico-chimique et sensorielle*. Mémoire de master.
- Braggins, T. J., Frost, D. A., Agnew, M. P., & Podmore, C. (1999). Changes in pH and free amino acids in sheep meat during extended chilled storage. In *International Congress of Meat Science and Technology* (Vol. 45, pp. 416-417).

- Buege, J. A., & Aust, S. T. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 52, 302–310
- Buttkus, H. (1970). Accelerated denaturation of myosin in frozen solution. *Journal of Food Science*, 35(5), 558-562.
- Byrne, C. E., Troy, D. J., & Buckley, D. J. (2000). Postmortem changes in muscle electrical properties of bovine *M. longissimus dorsi* and their relationship to meat quality attributes and pH fall. *Meat Science*, 54(1), 23–34.
- Calnan, H., Jacob, R. H., Pethick, D. W., & Gardner, G. E. (2016). Production factors influence fresh lamb longissimus colour more than muscle traits such as myoglobin concentration and pH. *Meat Science*, 119, 41-50.
- Cao, J.X., Zhou, C.Y., Wang, Y., Sun, Y.Y., & Pan, D.D. (2017). The effect of oxidation on the structure of g-actin and its binding ability with aroma compounds in carp grass skeletal muscle, *Food Chemistry*, 240,346-353.
- Chan, J. T., Omana, D. A., & Betti, M. (2011). Application of high pressure processing to improve the functional properties of pale, soft, and exudative (PSE)-like turkey meat. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(3), 216-225.
- Charton, K. (2010). Etude de la physiopathologie de la dystrophie musculaire tibiale et de la dystrophie des ceintures 2J et stratégies thérapeutiques (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat en Sciences, université d'Evry-val d'Essonne).
- Chen, Z., & Feng, A. (2020). The quality evaluation method of tilapia fillets stored at 3 and–2° C based on fractal dimension changes. *Journal of Food Process Engineering*, 43(7), e13407.
- Cheng, J. H., & Sun, D. W. (2014). Hyperspectral imaging as an effective tool for quality analysis and control of fish and other seafoods: Current research and potential applications. *Trends in Food Science & Technology*, 37(2), 78-91.
- Cheng, Q., & Sun, D. W. (2008). Factors affecting the water holding capacity of red meat products: a review of recent research advances. *Critical reviews in food science and nutrition*, 48(2), 137-159.
- Cheng, S., Wang, X., Li, R., Yang, H., Wang, H., Wang, H., & Tan, M. (2019). Influence of multiple freeze-thaw cycles on quality characteristics of beef semimembranous muscle: With emphasis on water status and distribution by LF-NMR and MRI. *Meat Science*, 147, 44-52.
- Chéret, R. (2005). Effet des hautes pressions sur les indicateurs de maturation de la viande et d'altération du muscle de poisson (Doctoral dissertation, Ecole doctorale Mécanique, Thermique et Génie Civil de Nantes).

- Chevalier D., Sequeira-Muñoz A., Le Bail A., Simpson B.K., & Ghoul M., (2000). Effect of freezing conditions and storage on ice crystal and drip volume in turbot (*Scophthalmus maximus*). Evaluation of pressure shift freezing vs. air-blast freezing. *Innovative Food Science & Emerging Technologie*, 1, 193–201
- Chikhi, K., & Bencharif, A. (2016). La consommation de produits carnés en Méditerranée: quelles perspectives pour l'Algérie. Zaragoza: CIHEAM, Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens, (115), 435-440.
- Choi, E. J., Park, H. W., Chung, Y. B., Park, S. H., Kim, J. S., & Chun, H. H. (2017). Effect of tempering methods on quality changes of pork loin frozen by cryogenic immersion. *Meat Science*, 124, 69-76.
- Choi, M. J., Abduzokhurov, T., Park, D. H., Kim, E. J., & Hong, G. P. (2018). Effects of deep freezing temperature for long-term storage on quality characteristics and freshness of lamb meat. *Korean journal for food science of animal resources*, 38(5), 959.
- Chriki, S., Renand, G., Picard, B., Micol, D., Journaux, L., & Hocquette, J. F. (2013). Meta-analysis of the relationships between beef tenderness and muscle characteristics. *Livestock Science*, 155(2-3), 424-434.
- Clinquart, A., Leroy, B., Dottreppe, O., Hornick, J. L., Dufrasne, I. L., & Istasse, L. (2000). Les facteurs de production qui influencent la qualité de la viande des bovins Blanc Bleu belge. *Les Journées CESAM*, 25-26.
- Cobos, A., & Díaz, O. (2015). Chemical Composition of Meat and Meat Products. In P. C. Cheung & B. M. Mehta (Eds.), *Handbook of Food Chemistry* (1st ed., pp. 471 – 510). Lugo: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Coibion, L. (2008). Acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovine: adaptation à la demande du consommateur. (Doctoral dissertation, Mémoire de fin d'études. Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE).
- Cook, K. L. K., & Hartel, R. W. (2010). Mechanisms of ice crystallization in ice cream production. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9(2), 213-222.
- Coombs, C. E. (2017). Identifying Storage Thresholds in Frozen and Chilled Lamb Meat. (Doctoral dissertation, Charles Sturt university).
- Coombs, C. E. O., Holman, B. W. B., Collins, D., Friend, M. A., Hopkins, D. L. (2017). Effects of chilled-then-frozen storage (up to 52 weeks) on lamb *M. longissimus lumborum* quality and safety parameters. *Meat Science*, 134, 86-97.
- Craplet C., (1966). La viande de bovins : de l'étable de l'éleveur a l'assiette du consommateur. Ed : Vigot Frère. Paris, 486 p.

- Dai, Q., Cheng, J. H., Sun, D. W., Pu, H., Zeng, X. A., & Xiong, Z. (2015). Potential of visible/near-infrared hyperspectral imaging for rapid detection of freshness in unfrozen and frozen prawns. *Journal of Food Engineering*, 149, 97-104.
- Dalvi-Isfahan, M., Hamdami, N., Xanthakis, E., & Le-Bail, A. (2017). Review on the control of ice nucleation by ultrasound waves, electric and magnetic fields. *Journal of Food Engineering*, 195, 222-234.
- Dalvi-Isfahan, M., Jha, P. K., Tavakoli, J., Daraei-Garmakhany, A., Xanthakis, E., & Le-Bail, A. (2019). Review on identification, underlying mechanisms and evaluation of freezing damage. *Journal of Food Engineering*, 255, 50-60.
- Damez, J. L., Clerjon, S., Abouelkaram, S., & Lepetit, J. (2008). Beef meat electrical impedance spectroscopy and anisotropy sensing for non-invasive early assessment of meat ageing. *Journal of Food Engineering*, 85(1), 116-122.
- Dang, D. S., Bastarrachea, L. J., Martini, S., & Matarneh, S. K. (2021). Crystallization Behavior and Quality of Frozen Meat. *Foods*, 10(11), 2707.
- Dara, P. K., Geetha, A., Mohanty, U., Raghavankutty, M., Mathew, S., Nagarajarao, R. C., & Rangasamy, A. (2021). Extraction and characterization of myofibrillar proteins from different meat sources: a comparative study. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 6(4), 367-378.
- Daszkiewicz, T., Kubiak, D., & Panfil, A. (2018b). The effect of long-term frozen storage on the quality of meat (*Longissimus thoracis et Lumborum*) from female roe deer (*Capreolus capreolus* L.). *Journal of Food Quality*, 2018.
- Daszkiewicz, T., Purwin, C., Kubiak, D., Fijałkowska, M., Kozłowska, E., & Antoszkiewicz, Z. (2018a). Changes in the quality of meat (*Longissimus thoracis et lumborum*) from Kamieniec lambs during long-term freezer storage. *Animal Science Journal*, 89(9), 1323-1330.
- De Smet, S., & Vossen, E. (2016). Meat: The balance between nutrition and health. A review. *Meat Science*, 120, 145-156.
- Deng, S., Han, Y., Gao, T., Ye, K., & Liu, J. (2021). Effect of temperature fluctuation during frozen storage on beef quality. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(1), e15043.
- Do, G. S., Sagara, Y., Tabata, M., Kudoh, K. I., & Higuchi, T. (2004). Three-dimensional measurement of ice crystals in frozen beef with a micro-slicer image processing system. *International Journal of Refrigeration*, 27(2), 184-190.
- Donhowe, D. P., & Hartel, R. W. (1996). Recrystallization of ice in ice cream during controlled accelerated storage. *International Dairy Journal*, 6(11-12), 1191-1208.

- Dransfield, E. (1994). Optimisation of tenderisation, ageing and tenderness. *Meat Science*, 36(1-2), 105-121.
- Dürrenberger, M. B., Handschin, S., Conde-Petit, B., & Escher, F. (2001). Visualization of food structure by confocal laser scanning microscopy (CLSM). *LWT-Food Science and Technology*, 34(1), 11-17.
- El Rammouz, R. (2005). Etude des changements biochimiques post mortem dans le muscle des volailles. Contribution au déterminisme de l'amplitude de la diminution du pH (Doctoral dissertation).
- Essen-Gustavsson, B., Karlsson, A., Lundström, K., & Enfält, A. C. (1994). Intramuscular fat and muscle fibre lipid contents in halothane-gene-free pigs fed high or low protein diets and its relation to meat quality. *Meat science*, 38(2), 269-277.
- Estévez, M. (2011). Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat science*, 89(3), 259-279.
- Eurell, J.A. & Frappier, B.L. (2006). *Dellmann's textbook of veterinary histology*. 6th Ed. blackwell publishing. Ames.
- Evans, S. D., Nott, K. P., Kshirsagar, A. A., & Hall, L. D. (1998). The effect of freezing and thawing on the magnetic resonance imaging parameters of water in beef, lamb and pork meat. *International journal of food science & technology*, 33(3), 317-328.
- Farouk, M. M., & Swan, J. E. (1998). Effect of rigor temperature and frozen storage on functional properties of hot-boned manufacturing beef. *Meat Science*, 49(2), 233-247.
- Farouk, M. M., Wieliczko, K. J., & Merts, I. (2004). Ultra-fast freezing and low storage temperatures are not necessary to maintain the functional properties of manufacturing beef. *Meat Science*, 66(1), 171-179.
- Faustman, C., & Cassens, R. G. (1990). The biochemical basis for discoloration in fresh meat: a review. *Journal of muscle Foods*, 1(3), 217-243.
- Fernandes, R. P. P., Freire, M. T. A., Carrer, C. C., & Trindade, M. A. (2013). Evaluation of physicochemical, microbiological and sensory stability of frozen stored vacuum-packed lamb meat. *Journal of Integrative Agriculture*, 12, 1946-1952.
- Fernandez, X., Monin, G., Culioli, J., Legrand, I., & Quilichini, Y. (1996). Effect of duration of feed withdrawal and transportation time on muscle characteristics and quality in Friesian-Holstein calves. *Journal of animal science*, 74(7), 1576-1583.
- Flores Mellado, A. A. (1998). Ice crystallization and recrystallization in frozen model solutions and ice cream as affected by polysaccharide gums (Doctoral dissertation).
- Fuentes, A., Masot, R., Fernández-Segovia, I., Ruiz-Rico, M., Alcañiz, M., & Barat, J. M. (2013). Differentiation between fresh and frozen-thawed sea bream (*Sparus aurata*)

- using impedance spectroscopy techniques. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 19, 210-217.
- Gagaoua, M. (2015). Biomarqueurs des qualités sensorielles de la viande bovine: compréhension des mécanismes et prédiction (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri Constantine).
 - Gartner, L. P. (2017). *Textbook of Histology*, fourth ed., Elsevier, Philadelphia, US.
 - Genot, C. (2000). *Congélation et qualité de la viande. Techniques et pratiques*, INRA Editions, Paris.
 - George, R. M. (1997). Freezing systems. In M. C. Erickson, & Y.-C. Hung (Eds.), *Quality in frozen food* (pp. 3e9). New York: Chapman & Hall.
 - Ghosh, D., & Chattopadhyay, P. (2012). Application of principal component analysis (PCA) as a sensory assessment tool for fermented food products. *Journal of food science and technology*, 49(3), 328-334.
 - Giannakourou, M. C., & Taoukis, P. S. (2007). Reactions kinetics. In S. S. Sablani, A. K. Datta, M. S. Rahman, & AS. Mujumdar (Eds.), *Handbook of food and bioprocess modeling techniques* (pp. 235–263). Boca Raton, FL: CRC Press.
 - Girard, P. P., & Forget, B. C. (2011). Microscopie de fluorescence à feuille de lumière-La face cachée de l'échantillon enfin dévoilée. *médecine/sciences*, 27(8-9), 753-762.
 - Gondret, F., & Hocquette, J. F. (2006). La teneur en lipides de la viande: une balance métabolique complexe. *Productions animales*, 19(5), 327-338.
 - Gondret, F., Mourot, J., & Bonneau, M. (1998). Comparison of intramuscular adipose tissue cellularity in muscles differing in their lipid content and fibre type composition during rabbit growth. *Livestock Production Science*, 54(1), 1-10.
 - Gonzales-Barron, U., & Butler, F. (2008). Fractal texture analysis of bread crumb digital images. *European Food Research and Technology*, 226(4), 721-729.
 - Gormley, R., Walshe, T., Hussey, K., & Butler, F. (2002). The effect of fluctuating vs. constant frozen storage temperature regimes on some quality parameters of selected food products. *LWT-Food Science and Technology*, 35(2), 190-200.
 - Gowen, A. A., Taghizadeh, M., & O'Donnell, C. P. (2009). Identification of mushrooms subjected to freeze damage using hyperspectral imaging. *Journal of Food Engineering*, 93(1), 7-12.
 - Gray, J. I., Gomaa, E. A., & Buckley, D. J. (1996). Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, 43S, 111–123.

- Grayson, A. L., King, D. A., Shackelford, S. D., Koohmaraie, M., & Wheeler, T. L. (2014). Freezing and thawing or freezing, thawing, and aging effects on beef tenderness. *Journal of Animal Science*, 92(6), 2735-2740.
- Grotta, L., Castellani, F., Palazzo, F., Haouet, M. N., & Martino, G. (2017). Treatment optimisation and sample preparation for the evaluation of lipid oxidation in various meats through TBARs assays before analysis. *Food Analytical Methods*, 10(6), 1870-1880.
- Grujić, R., Petrović, L. J., Pikula, B., & Amidžić, L. (1993). Definition of the optimum freezing rate—1. Investigation of structure and ultrastructure of beef *M. longissimus dorsi* frozen at different freezing rates. *Meat Science*, 33(3), 301-318.
- Guillemin, N., Cassar-Malek, I., Hocquette, J. F., Jurie, C., Micol, D., Listrat, A., ... & Picard, B. (2009). La maîtrise de la tendreté de la viande bovine: identification de marqueurs biologiques. *INRA Productions Animales*, 22(4), 331-344.
- Hagiwara, T., Wang, H., Suzuki, T., & Takai, R. (2002). Fractal analysis of ice crystals in frozen food. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(11), 3085-3089.
- Hansen, E., Juncher, D., Henckel, P., Karlsson, A., Bertelsen, G., & Skibsted, L. H. (2004). Oxidative stability of chilled pork chops following long term freeze storage. *Meat Science*, 68(3), 479-484.
- Hartel, R. (2001). *Crystallization in foods*. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers.
- Hartel, R. W. (1998). Mechanisms and kinetics of recrystallization in ice cream. In D. S. Reid (Ed.), *The properties of water in foods* (pp. 287 -319). London, UK: Blackie Academic and Professional.
- He, Q., Yang, Z., Gong, B., Wang, J., Xiao, K., & Yang, S. T. (2017). Quality evaluation focusing on tissue fractal dimension and chemical changes for frozen tilapia with treatment by tangerine peel extract. *Scientific Reports*, 7(1), 1-8.
- Heldman, D., & Singh, R. (1981). *Food Process Engineering*; 2th Ed.; the AVI Pub. Westport, CT, USA.
- Holman, B. W., Coombs, C. E., Morris, S., Kerr, M. J., & Hopkins, D. L. (2018). Effect of long term chilled (up to 5 weeks) then frozen (up to 12 months) storage at two different sub-zero holding temperatures on beef: 3. protein structure degradation and a marker of protein oxidation. *Meat Science*, 139, 171-178.
- Hong, H., Zhu, S. C., Luo, Y. K., & Yu, J. (2011). Quality changes of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) during chilled and partial freezing storage. *South China Fisheries Science*, 7(6), 7-12.

- Hou, Q., Cheng, Y., Kang, D., Zhang, W., & Zhou, G. (2020). Quality changes of pork during frozen storage: comparison of immersion solution freezing and air blast freezing. *International Journal of Food Science & Technology*, 55, 109-118.
- Huff-Lonergan, E., & Lonergan, S. M. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, 71(1), 194-204.
- Igene, J. O., Pearson, A. M., Merkel, R. A., & Coleman, T. H. (1979). Effect of frozen storage time, cooking and holding temperature upon extractable lipids and TBA values of beef and chicken. *Journal of Animal Science*, 49, 701-708.
- Ishiguro, H., & Horimizu, T. (2008). Three-dimensional microscopic freezing and thawing behavior of biological tissues revealed by real-time imaging using confocal laser scanning microscopy. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 51(23-24), 5642-5649.
- Ishiguro, H., & Horimizu, T. (2008). Three-dimensional microscopic freezing and thawing behavior of biological tissues revealed by real-time imaging using confocal laser scanning microscopy. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 51(23-24), 5642-5649.
- ISO, (1994). Norme 8402 (Quality management and quality assurance - Vocabulary), International Organisation for Standardization, Geneva, Switzerland. Consulté le : [20/10/2021]. Disponible sur : <https://www.saiglobal.com/pdftemp/previews/osh/as/as8000/>
- Jeantet, R., Croguennec, T., Schuck, P., & Brulé, G. (2006). *Science des aliments-Biochimie-Microbiologie-Procédés-Produits. Vol.1 Stabilisation biologique et physico-chimique*. Tec & Doc, Paris.
- Jha, P. K., Xanthakis, E., Chevallier, S., Jury, V., & Le-Bail, A. (2019). Assessment of freeze damage in fruits and vegetables. *Food Research International*, 121, 479-496.
- Jia, G., Sha, K., Meng, J., & Liu, H. (2019). Effect of high voltage electrostatic field treatment on thawing characteristics and post-thawing quality of lightly salted, frozen pork tenderloin. *LWT*, 99, 268-275.
- Jiang, Q., Yin, T., Yang, F., Yu, D., Xu, Y., Tie, H., ... & Xia, W. (2020). Effect of freezing methods on quality changes of grass carp during frozen storage. *Journal of Food Process Engineering*, 43(11), e13539.
- Journal officiel de l'Union Européenne (JOUE). Règlement (Ce) N°853/2004 Du Parlement Européen Et Du Conseil Du 29 Avril 2004. Consulté le : [20/08/2020]. Disponible sur : <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32004R0853&from=FR>.

- Journal Officiel de la République Algérienne (JORADP).(2009). De la protection du consommateur. Consulté le : [20/08/2020]. Disponible sur : <https://www.dawalger.dz/images/stories/PDF/ce/loi09-03.pdf>.
- Journal officiel de la république algérienne (JORADP).(1999)Relatif aux règles applicables à la composition et à la mise à la consommation des produits carnées cuits. Consulté le : [20/08/2020]. Disponible sur: https://www.qualilab.dz/.../9-Arrete_26-07-2000_composition_et_mise_consommation.pdf.
- Journal Officiel de la République Française (JORF). Arrêté du 19 mai 2020 fixant les catégories de denrées alimentaires qui sont exclues du don compte tenu du risque sanitaire que leur conservation peut engendrer. Consulté le : [05/08/2020]. Disponible sur : https://draaf.auvergne-rhone-lpes.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/Arrete_19_mai_2020_dons_de_denrees_alimentaires_cle0168d5.pdf.
- Jurie, C., & Listrat, A. (2010) Structure et fonction des constituants du muscle squelettique. In : Bauchart, D. et Picard, B. (Eds.) (2010) Muscle et viande de ruminants. Versailles Cedex, Éditions Quæ. pp.61-78
- Kaale, L. D., & Eikevik, T. M. (2013a). A histological study of the microstructure sizes of the red and white muscles of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets during superchilling process and storage. *Journal of Food Engineering*, 114(2), 242-248.
- Kaale, L.D., & Eikevik, T.M., (2013b). A study of the ice crystal sizes of red muscle of pre-rigor Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets during superchilled storage. *Journal of Food Engineering* 119(3), 544-551.
- Kaale, L. D., & Eikevik, T. M. (2016). Changes of proteins during superchilled storage of Atlantic salmon muscle (*Salmo salar*). *Journal of food science and technology*, 53(1), 441-450.
- Kandeepan, G., Biswas, S., & Porteen, K. (2006). Influence of histological changes of refrigerator preserved buffalo meat on quality characteristics. *Journal of Food Technology*, 4(2), 116-121.
- Kashchiev, D. (2020). Classical nucleation theory approach to two-step nucleation of crystals. *Journal of Crystal Growth*, 530, 125-300.
- Keeton J. T., & Eddy S. (2004). Chemical composition. In *Encyclopedia of meat sciences*. Jensen W, Devine C et Dikeman M, Eds, Elsevier, 1, 210-217.
- Komolka, K., Albrecht, E., Wimmers, K., Michal, J. J., & Maak, S. (2014). Molecular heterogeneities of adipose depots-potential effects on adipose-muscle cross-talk in humans, mice and farm animals. *Journal of genomics*, 2, 31.

- Kennedy, C.J. (2000). Future trends in frozen foods. In: Kennedy, C.J. (Ed.), *Managing Frozen Foods*. (pp. 263–278). Woodhead Publishing Limited, Cambridge.
- Kerr, W. L., Kauten, R. J., McCarthy, M. J., & Reid, D. S. (1998). Monitoring the formation of ice during food freezing by magnetic resonance imaging. *LWT-Food Science and Technology*, 31(3), 215-220.
- Kerth, C. R. (2013). *Muscle Structure and Cytoskeletal Proteins*. In *The Science of Meat Quality*. Kerth CR (Eds) Wiley-Blackwell, Ames, pp 49–6449.
- Kiani, H., & Sun, D. W. (2011). Water crystallization and its importance to freezing of foods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 22(8), 407-426.
- Kim, H. W., & Kim, Y. H. B. (2017). Effects of aging and freezing/thawing sequence on quality attributes of bovine *Mm. gluteus medius* and *biceps femoris*. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 30(2), 254-261.
- Kim, H. W., Kim, J. H., Seo, J. K., Setyabrata, D., & Kim, Y. H. B. (2018). Effects of aging/freezing sequence and freezing rate on meat quality and oxidative stability of pork loins. *Meat Science*, 139, 162-170.
- Kim, Y.H.B., Frandsen, M., & Rosenvold, K. (2011). Effect of ageing prior to freezing on colour stability of ovine *Longissimus* muscle. *Meat Science*, 88, 332–337.
- Kim, Y.H.B., Liesse, C., Kemp, R., & Balan, P., (2015). Evaluation of combined effects of ageing period and freezing rate on quality attributes of beef loins. *Meat Science* 110, 40-45.
- Kobayashi, R., Kimizuka, N., Watanabe, M., & Suzuki, T. (2015). The effect of supercooling on ice structure in tuna meat observed by using X-ray computed tomography. *International journal of refrigeration*, 60, 270-277.
- Kolsarıcı, N., Candoğan, K., & Akoğlu, İ. T. (2010). Effect of frozen storage on alterations in lipids of mechanically deboned chicken meats. *GIDA*, 35(6), 403-410.
- Kristensen, L., Christensen, M., & Ertbjerg, P. (2006). Activities of calpastatin, μ -calpain and m-calpain are stable during frozen storage of meat. *Meat science*, 72(1), 116-120.
- Kušec, I. D., Kušec, G., Vuković, R., Has-Schön, E., & Kralik, G. (2015). Differences in carcass traits, meat quality and chemical composition between the pigs of different CAST genotype. *Animal Production Science*, 56(10), 1745-1751.
- Lagerstedt, Å., Enfält, L., Johansson, L., & Lundström, K. (2008). Effect of freezing on sensory quality, shear force and water loss in beef *M. longissimus dorsi*. *Meat science*, 80(2), 457-461.
- Landis, E. N., & Keane, D. T. (2010). X-ray microtomography. *Materials characterization*, 61(12), 1305-1316.

- Le Bail, A. (2004). Freezing processes: physical aspects. In: Hui, Y.H., Cornillon, P., Legaretta, I.G., Lim, M.H., Murrell, K.D. and Nip, W.K. (Eds), *Handbook of Frozen Foods*. (pp.1-11) New York: Marcel Dekker, USA.
- Lebret, B., & Picard, B. (2015). Les principales composantes de la qualité des carcasses et des viandes dans les différentes espèces animales. *INRA Productions Animales*, 28(2), 93-98.
- Lefaucheur, L. (2010). A second look into fibre typing—Relation to meat quality. *Meat science*, 84(2), 257-270.
- Leth, T., & Ertbjerg, P. (2004). Micronutrients and other minor meat components. In: Jensen WK, Devine C, Dikeman M (Eds.). *Encyclopedia of meat sciences*. (pp 190–195). Elsevier Academic Press, Oxford.
- Leygonie, C., Britz, T. J., & Hoffman, L. C. (2012). Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Science*, 91, 93–98.
- Li, X., Wang, H., Mehmood, W., Qian, S., Sun, Z., Zhang, C., & Blecker, C. (2018). Effect of storage temperatures on the moisture migration and microstructure of beef. *Journal of Food Quality*, 2018.3873179
- Li, X., Zhang, Y., Li, Z., Li, M., Liu, Y., & Zhang, D. (2017). The effect of temperature in the range of –0.8 to 4°C on lamb meat color stability. *Meat Science*, 134, 28-33.
- 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*, 28(2), 125-136.
- Livingston, D. J., & Brown, W. D. (1981). The chemistry of myoglobin and its reactions. *Food Technology*, 35, 244–252
- Lonergan, E. H., Zhang, W., & Lonergan, S. M. (2010). Biochemistry of postmortem muscle—Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat science*, 86(1), 184-195.
- Luan, L., Sun, Y., Chen, S., Wu, C., & Hu, Y. (2018). A study of fractal dimension as a quality indicator of hairtail (*Trichiurus haumela*) samples during frozen storage. *Scientific reports*, 8(1), 1-8.
- Lucas, T., & Raoult-Wack, A. L. (1998). Immersion chilling and freezing in aqueous refrigerating media: review and future trends. *International Journal of Refrigeration*, 21(6), 419-429.
- Magnussen, O.M., Hemmingsen, A.K., Hardarsson, V., Nordtvedt, T.S., & Eikevik, T.M., (2008). Freezing of Fish. In: Evans, J.A (Ed.), *Frozen Food Science and Technology*. (pp.151-164). Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK.

- Malcolm, C.(1999). Water activity: good manufacturing practice. In Frederic J-F.(Eds). Wiley encyclopedia of food science and technology. (pp 3031-3036).New York,USA.
- Mancini, R. A., & Hunt, M. (2005). Current research in meat color. *Meat science*, 71(1), 100-121.
- Marcellini, M., Noirjean, C., Dedovets, D., Maria, J., & Deville, S. (2016). Time-Lapse, in situ imaging of ice crystal growth using confocal microscopy. *ACS omega*, 1(5), 1019-1026.
- Marieb, E. (1993). Anatomie et physiologie humaine. 2ème Ed. Saint-Laurent : De Boeck Université.
- Martin, G.B. (2011). L’homme et ses aliments : initiation à la science des aliments, 2ème Ed. Les presses de l’université Laval, Saint Nicolas (Québec).
- McKenna, B. (2006). Shelf-life prediction of frozen foods. In: D.W. Sun, ed. Handbook of Frozen Food Processing and Packaging. Boca Raton, FL: CRC/Taylor & Francis Group, pp. 603–612.
- Melzer, W., Herrmann-Frank, A., & Lüttgau, H. C. (1995). The role of Ca²⁺ ions in excitation-contraction coupling of skeletal muscle fibres. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Biomembranes*, 1241(1), 59-116.
- Mescher, A. L. (2018). Junqueira's Basic Histology. Fifteenth Ed. The McGraw-Hill Companies, United States of America.
- Meziani, S. (2011). Influence du procédé de congélation sur les levures et les propriétés techno-fonctionnelles des pâtes sucrées (type Kougelhopf) (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine).
- Molina-García, A. D., Otero, L., Martino, M. N., Zaritzky, N. E., Arabas, J., Szczepek, J., & Sanz, P. D. (2004). Ice VI freezing of meat: supercooling and ultrastructural studies. *Meat Science*, 66(3), 709-718.
- Monahan, F.J., Asghar, A., Gray, J.I., Buckley, D.J., & Morrissey, P.A. (1994). Effect of oxidized dietary lipid and vitamin E on the colour stability of pork chops. *Meat Science*, 37, 205-215.
- Monin, G. (1991). Facteurs biologiques des qualités de la viande bovine. *Productions Animales*, 4, 151–160.
- Monin, G. (2003). Abattage des porcs et qualités des carcasses et des viandes. *Productions animales*, 16(4), 251-262.
- Moschopoulou, E., Moatsou, G., Syrokou, M. K., Paramithiotis, S., & Drosinos, E. H. (2019). Food quality changes during shelf life. In C. M. Galanakis (Ed.), *Food Quality and Shelf Life* (pp. 1-31). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Inc.

- Mousavi, R., Miri, T., Cox, P. W., & Fryer, P. J. (2005). A novel technique for ice crystal visualization in frozen solids using X-ray micro-computed tomography. *Journal of Food Science*, 70(7), e437-e442.
- Mousavi, R., Miri, T., Cox, P.W., & Fryer, P.J. (2007). Imaging food freezing using X-ray microtomography. *International Journal of Food Science & Technology* 42(6), 714-727.
- Muchenje, V., Dzama, K., Chimonyo, M., Strydom, P. E., Hugo, A., & Raats, J. G. (2009). Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. *Food Chemistry*, 112(2), 279-289.
- Muela, E., Monge, P., Sañudo, C., Campo, M. M., & Beltrán, J. A. (2015). Meat quality of lamb frozen stored up to 21 months: Instrumental analyses on thawed meat during display. *Meat Science*, 102, 35–40.
- Muela, E., Sanudo, C., Campo, M.M., Medel, I. & Beltran, J.A.(2010). Effect of freezing method and frozen storage duration on instrumental quality of lamb throughout display. *Meat Science*, 84,662–669.
- Mulot, V. (2019a). Caractérisation expérimentale et modélisation multi-échelles des transferts thermiques et d'eau lors de la congélation des produits alimentaires (Doctoral dissertation, Institut agronomique, vétérinaire et forestier de France).
- Mulot, V., Fatou-Toutie, N., Benkhelifa, H., Pathier, D., & Flick, D. (2019b). Investigating the effect of freezing operating conditions on microstructure of frozen minced beef using an innovative X-ray micro-computed tomography method. *Journal of Food Engineering*, 262, 13-21.
- Muthukumarappan, K., & Marella, C. (2007). Food freezing technology. In Kutz, M. (Ed.), *Handbook of farm, dairy and food machinery engineering.*(pp. 389-415). New York: William Andrew publishing, USA.
- Nahar, M. K., Zakaria, Z., & Hashim, U. (2014). Protein solubility behaviour of fresh and frozen chicken meat in slaughtering and non slaughtering condition. *International Food Research Journal*, 21(1). 135–137.
- Nambudiri, D. D., & Gopakumar, K. (1992). ATPase and lactate dehydrogenase activities in frozen stored fish muscle as indices of cold storage deterioration. *Journal of food science*, 57(1), 72-76.
- Ndoye, F. T., & Alvarez, G. (2015). Characterization of ice recrystallization in ice cream during storage using the focused beam reflectance measurement. *Journal of Food Engineering*, 148, 24–34.
- Ngapo, T. M., Babare, I. H., Reynolds, J., & Mawson, R. F. (1999). Freezing and thawing rate effects on drip loss from samples of pork. *Meat Science*, 53(3), 149-158.

- Nørnung, B., Andersen, J. K., & Buncic, S. (2009). Main concerns of pathogenic microorganisms in meat. In F. Toldrá (Ed.), *Safety of meat and processed meat* (pp. 3-29). Springer, New York, NY.
- North, M.F., & Lovatt, S.J. (2006). Freezing methods and equipment. In: Sun, D.W. (Ed.), *Handbook of Frozen Food Processing and Packaging* (pp.187-200). CRC Press: Boca Raton, USA.
- Nout, R., Hounhouigan, J., & Van Boekel, T. (2003). *Les Aliments: Transformation, Conservation et Qualité*. Backhuys Publishers and CTA, The Netherlands.
- Offer, G., & Cousins, T. (1992). The mechanism of drip production: formation of two compartments of extracellular space in muscle post mortem. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58(1), 107-116.
- Ohta, F., & Tanaka, K. (1978). Some properties of the liquid portion in the frozen fish muscle fluid. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 44(1), 59-62.
- Ouali, A. (1992). Proteolytic and physicochemical mechanisms involved in meat texture development. *Biochimie*, 74(3), 251-265.
- Ouali, A., Herrera-Mendez, C. H., Coulis, G., Becila, S., Boudjellal, A., Aubry, L., & Sentandreu, M. A. (2006). Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Science*, 74(1), 44-58.
- Oumokhtar, B., Karib, H., Bouchriti, N., & Araba, A. (1998). Appréciation de la qualité bactériologique de la viande et des abats de taurillons fraîchement abattu dans les abattoirs de Rabat. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 18(3), 169-176.
- Parniakov, O. (2017). Intensification de la congélation des aliments sous l'effet des champs électriques pulsés. Thèse doctorat. Université de technologie Compiègne.
- Payne, S. R., Sandford, D., Harris, A., & Young, O. A. (1994). The effects of antifreeze proteins on chilled and frozen meat. *Meat science*, 37(3), 429-438.
- Pearce, K. L., Rosenvold, K., Andersen, H. J., & Hopkins, D. L. (2011). Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes—A review. *Meat science*, 89(2), 111-124.
- Persson, P. O., & Londahl, G. (1993). Freezing technology. In Mallett, C. P. (Ed.), *Frozen food technology* (pp. 20–58). Glasgow: Blackie Academic & Professional, UK, pp. 20–58.
- Petzold, G., & Aguilera, J. M. (2009). Ice morphology: fundamentals and technological applications in foods. *Food Biophysics*, 4(4), 378-396.

- Peyvasteh, M., Popov, A., Bykov, A., & Meglinski, I. (2020). Meat freshness revealed by visible to near-infrared spectroscopy and principal component analysis. *Journal of Physic Communications*, 4(9), 095011.
- Pfeifer, P., Wu, Y. J., Cole, M.W., & Krim, J. (1989). Multilayer adsorption on a fractally rough surface. *Physical Review Letters*, 62, 1997- 2000
- Pham, Q. T. (1987). Calculation of bound water in frozen food. *Journal of Food Science*, 52(1), 210-212.
- Pinheiro, R. S. B., Francisco, C. L., Lino, D. M., & Borba, H. (2019). Meat quality of Santa Inês lamb chilled-then-frozen storage up to 12 months. *Meat Science*, 148, 72–78.
- Pöldvere, A., Tänavots, A., Saar, R., Sild, S., & Lepasalu, L. (2016). Effect of heat treatment at constant 120°C temperature on the rheological and technological properties of pork. *Agronomy Research*, 14(2), 1434–1441.
- Pronk, P., Ferreira, C. I., & Witkamp, G. J. (2005). A dynamic model of Ostwald ripening in ice suspensions. *Journal of Crystal Growth*, 275(1-2), e1355-e1361.
- Puolanne, E., & Halonen, M. (2010). Theoretical aspects of water-holding in meat. *Meat Science*, 86(1), 151-165.
- Qi, J., Li, C., Chen, Y., Gao, F., Xu, X., & Zhou, G. (2012). Changes in meat quality of ovine longissimus dorsi muscle in response to repeated freeze and thaw. *Meat Science*, 92, 619-626.
- Qian, S., Li, X., Wang, H., Mehmood, W., Zhong, M., Zhang, C., & Blecker, C. (2019). Effects of low voltage electrostatic field thawing on the changes in physicochemical properties of myofibrillar proteins of bovine Longissimus dorsi muscle. *Journal of Food Engineering*, 261, 140-149.
- Rahelić, S., Puač, S., & Gawwad, A. H. (1985). Structure of beef longissimus dorsi muscle frozen at various temperatures: Part 1-histological changes in muscle frozen at -10,-22, -33,-78, -115 and -196°C. *Meat Science*, 14(2), 63-72
- Rahman, M. S. (1999). Food preservation by freezing. In M. S. Rahman (Ed.), *Handbook of food preservation* (pp. 259–284). New York: Marcel Dekker.
- Reid, R., Fanning, S., Whyte, P., Kerry, J., & Bolton, D. (2017). Comparison of hot versus cold boning of beef carcasses on bacterial growth and the risk of blown pack spoilage. *Meat Science*, 125, 46-52.
- Ripoll, G., Joy, M., & Muñoz, F. (2011). Use of dietary vitamin E and selenium (Se) to increase the self-life of modified atmosphere packaged lamb meat. *Meat Science*, 87, 88-93.
- Risvik, E. (1994). Sensory properties and preferences. *Meat Science*, 36, 67-77.

- Rock, E. (2002). Les apports en micronutriments de la viande. 9èmes Journées de la viande et technologie du muscle. Clermont Ferrand, France: INRA.
- Russo Krauss, I., Merlino, A., Vergara, A., & Sica, F. (2013). An overview of biological macromolecule crystallization. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(6), 11643-11691.
- Saeed, S., & Howell, N. K. (2002). Effect of lipid oxidation and frozen storage on muscle proteins of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 82(5), 579-586.
- Sanz, P. D., De Elvira, C., Martino, M., Zaritzky, N., Otero, L., & Carrasco, J. A. (1999). Freezing rate simulation as an aid to reducing crystallization damage in foods. *Meat Science*, 52(3), 275-278.
- Schreurs, F. J. G. (2000). Post-mortem changes in chicken muscle. *World's Poultry Science Journal*, 56(4), 319-346.
- Shan, J., Wang, X., Russel, M., Zhao, J., & Zhang, Y. (2018). Comparisons of fish morphology for fresh and frozen-thawed crucian carp quality assessment by hyperspectral imaging technology. *Food Analytical Methods*, 11(6), 1701-1710.
- Shanks, B. C., Wulf, D. M., & Maddock, R. J. (2002). The effect of freezing on Warner-Bratzler shear force values of beef longissimus steaks across several postmortem aging periods. *Journal of Animal Science*, 80(8), 2122-2125.
- Shenouda, S. Y. K. (1980). Theories of protein denaturation during frozen storage of fish flesh. *Advances in Food Research*, 26, 275–311.
- Sigurgisladottir, S., Ingvarsdottir, H., Torrissen, O. J., Cardinal, M., & Hafsteinsson, H. (2000). Effects of freezing/thawing on the microstructure and the texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Food Research International*, 33(10), 857-865.
- Singh, B., Parwate, D. V., & Shukla, S. K. (2009). Radiosterilization of fluoroquinolones and cephalosporins: Assessment of radiation damage on antibiotics by changes in optical property and colorimetric parameters. *AAPS PharmSciTech*, 10(1), 34-43.
- Smulders F., Hofbauer P. & Geesink G.H. (2014). The Conversion of Muscle to Meat. In: *Meat Inspection and Control in the Slaughterhouse* (pp. 399-421. John Wiley & Sons, Ltd Eds.pp. 399-421.
- Sofos, J. N. (2008). Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat Science*, 78(1-2), 3-13.
- Soyer, A., zalp, B., Dalmis_, & Bilgin, V. (2010). Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. *Food Chemistry*, 120, 1025–1030

- Suman, S. P., & Joseph, P. (2013). Myoglobin Chemistry and Meat Color. *Annual Review of Food Science and Technology*, 4(1), 79-99.
- Sun, Q., Sun, F., Xia, X., Xu, H., & Kong, B. (2019). The comparison of ultrasound-assisted immersion freezing, air freezing and immersion freezing on the muscle quality and physicochemical properties of common carp (*Cyprinus carpio*) during freezing storage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 51, 281-291.
- Sutton, R. L., Lips, A., Piccirillo, G., & Sztehló, A. (1996). Kinetics of ice recrystallization in aqueous fructose solutions. *Journal of Food Science*, 61(4), 741-745.
- Tan, M., Mei, J., & Xie, J. (2021). The Formation and Control of Ice Crystal and Its Impact on the Quality of Frozen Aquatic Products: A Review. *Crystals*, 11(1), 68.
- Taylor, R. G., Geesink, G. H., Thompson, V. F., Koohmaraie, M., & Goll, D. E. (1995). Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization?. *Journal of Animal Science*, 73(5), 1351-1367.
- Tolstorebrov, I., Eikevik, T. M., & Bantle, M. (2016). Effect of low and ultra-low temperature applications during freezing and frozen storage on quality parameters for fish. *International Journal of Refrigeration*, 63, 37-47.
- Tomasevic, I., Tomovic, V., Ikonc, P., Rodriguez, J. M. L., Barba, F. J., Djekic, I., ... & Zivkovic, D. (2019). Evaluation of poultry meat colour using computer vision system and colourimeter: Is there a difference?. *British Food Journal*. 121(5), 1078–1087.
- Tornberg, E. V. A. (2005). Effects of heat on meat proteins—Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science*, 70(3), 493-508.
- Totland, G. K., Kryvi, H., & Slinde, E. (1988). Composition of muscle fibre types and connective tissue in bovine M. semitendinosus and its relation to tenderness. *Meat Science*, 23(4), 303-315.
- Touraille, C. (1994). Incidence des caractéristiques musculaires sur les qualités organoleptiques des viandes. *Renc. Rech. Rum*, 1, 169-176.
- Touratier, C. (1992). Comportement des protéines sarcoplasmiques de la viande de porc au cours du stockage et du chauffage: relations avec la qualité de la viande (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine).
- Tournour, H. H., Segundo, M. A., Magalhães, L. M., Costa, A. S., & Cunha, L. M. (2017). Effect of Touriga nacional grape extract on characteristics of mechanically deboned chicken meat kept under frozen storage. *Journal of Food Process Engineering*, 40(3), e12434.
- Tremeac, B. (2004). Étude expérimentale et numérique des phénomènes thermomécaniques lors de la congélation de produits alimentaires. Application à des structures multicouches (Doctoral dissertation, Université de Nantes).

- Troy, D. J., & Kerry, J. P. (2010). Consumer perception and the role of science in the meat industry. *Meat Science*, 86(1), 214-226.
- Turgut, S.S., Işıkçı, F., & Soyer, A. (2017) .Antioxidant activity of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during frozen storage, *Meat science*, 129 111-119.
- Ullah, J., Takhar, P. S., & Sablani, S. S. (2014). Effect of temperature fluctuations on ice-crystal growth in frozen potatoes during storage. *LWT-Food Science and Technology*, 59(2), 1186-1190.
- Valin, C. (1988). Différenciation du tissu musculaire. Conséquences technologiques pour la filière viande. *Reproduction Nutrition Developpement*, 28(3B), 845-856.
- Vicent, V., Verboven, P., Ndoye, F. T., Alvarez, G., & Nicolai, B. (2017). A new method developed to characterize the 3D microstructure of frozen apple using X-ray micro-CT. *Journal of Food Engineering*, 212, 154-164.
- Vieira, C., Diaz, M. T., Martínez, B., & García-Cachán, M. D. (2009). Effect of frozen storage conditions (temperature and length of storage) on microbial and sensory quality of rustic crossbred beef at different stages of aging. *Meat Science*, 83, 398-404.
- Wang, H., Shi, W., & Wang, X. (2022). Establishment of quality evaluation method for frozen tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets stored at different temperatures based on fractal dimension. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(1), e16032
- Wang, L., & Weller, C. L. (2011). Thermophysical properties of frozen foods. In: Sun D.-W. (ed.): *Handbook of Frozen Food Processing and Packaging*, 2nd editon. CRC Press, Boca Raton, pp. 101-125.
- Wang, Z., He, Z., Zhang, D., Li, H., & Wang, Z. (2020). Using oxidation kinetic models to predict the quality indices of rabbit meat under different storage temperatures. *Meat Science*, 162, 108042.
- Washburn, K. E., Stormo, S. K., Skjelvareid, M. H., & Heia, K. (2017). Non-invasive assessment of packaged cod freeze-thaw history by hyperspectral imaging. *Journal of Food Engineering*, 205, 64-73.
- Wei, R., Wang, P., Han, M., Chen, T., Xu, X., & Zhou, G. (2017). Effect of freezing on electrical properties and quality of thawed chicken breast meat. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 30(4), 569.
- Wheeler, T. L., Crouse, J. D., & Koohmaraie, M. (1992). The effect of postmortem time of injection and freezing on the effectiveness of calcium chloride for improving beef tenderness. *Journal of Animal Science*, 70(11), 3451-3457.

- Willian, K. (2013). Lipid and lipid oxidation. The science of meat quality. Wiley, Ames, Eds, 147–176.
- Winger, R. J. (1984). Storage life and eating-related quality of New-Zealand frozen lamb: A compendium of irrepressible longevity. In *Thermal processing and quality of foods* (pp. 541-543). Elsevier London.
- Xanthakis, E., Havet, M., Chevallier, S., Abadie, J., & Le-Bail, A. (2013). Effect of static electric field on ice crystal size reduction during freezing of pork meat. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 20, 115-120.
- Xia, X., Kong, B., Liu, Q., & Liu, J. (2009). Physicochemical change and protein oxidation in porcine longissimus dorsi as influenced by different freeze–thaw cycles. *Meat science*, 83(2), 239-245.
- Xu, J. L., & Sun, D. W. (2017). Identification of freezer burn on frozen salmon surface using hyperspectral imaging and computer vision combined with machine learning algorithm. *International Journal of Refrigeration*, 74, 151-164.
- Yang, F., Jing, D., Yu, D., Xia, W., Jiang, Q., Xu, Y., & Yu, P. (2019). Differential roles of ice crystal, endogenous proteolytic activities and oxidation in softening of obscure pufferfish (*Takifugu obscurus*) fillets during frozen storage. *Food Chemistry*, 278, 452-459.
- Yates, L. D., Greaser, M. L., & Huxley, H. E. (1983). Quatitative determination of myosin and actin in rabbit skeletal muscle. *Journal of Molecular Biology*, 168(1), 123-141.
- Zaritzky, N.E., (2000). Factors affecting the stability of frozen foods, In: Kennedy, C.J. (Ed.), *Managing Frozen Foods*. Woodhead Publishing, pp. 111-135.
- Zequan X, Zirong W, Jiankun L, Xin M, Hopkins D.L, Holman B.W.B, & Bekhit A.E.A. (2019). The effect of freezing time on the quality of normal and pale, soft and exudative (PSE)-like pork. *Meat science*, 152,1-7.
- Zhang, M., Xia, X., Liu, Q., Chen, Q., & Kong, B. (2019a). Changes in microstructure, quality and water distribution of porcine longissimus muscles subjected to ultrasound-assisted immersion freezing during frozen storage. *Meat Science*, 151, 24-32
- Zhang, R., Yoo, M. J. Y., & Farouk, M. M. (2019b). Quality and acceptability of fresh and long-term frozen in-bag dry-aged lean bull beef. *Journal of Food Quality*, 2019 (1975264), 1–15.
- Zhang, S. X., Farouk, M. M., Young, O. A., Wieliczko, K. J., & Podmore, C. (2005). Functional stability of frozen normal and high pH beef. *Meat Science*, 69, 765-772.
- Zhang, X., Gao, T., Song, L., Zhang, L., Jiang, Y., Li, J. L., ... & Zhou, G. H. (2017). Effects of different thawing methods on the quality of chicken breast. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(9), 2097-2105.

- Zhang, Y., & Ertbjerg, P. (2018). Effects of frozen-then-chilled storage on proteolytic enzyme activity and WHC of pork loin. *Meat Science*, 145, 375-382.
- Zhang, Y., & Ertbjerg, P. (2019). On the origin of thaw loss: Relationship between freezing rate and protein denaturation. *Food Chemistry*, 299, 125104.
- Zhou, C.Y., Pan, D.D., Sun, Y.Y., Li, C.B., Xu, X.L., Cao, J.X., & Zhou, G.H. (2018), The effect of cooking temperatures on the aggregation and digestion rate of myofibrillar proteins in Jinhua ham, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98 ,3140-3147
- Zhu, F., Zhang, D., He, Y., Liu, F., & Sun, D. W. (2013). Application of visible and near infrared hyperspectral imaging to differentiate between fresh and frozen–thawed fish fillets. *Food and Bioprocess Technology*, 6(10), 2931-2937.
- Zhu, L. G., & Brewer, S. (1998). Discoloration of fresh pork as related to muscle and display conditions. *Journal of Food Science*, 63, 763–767.
- Zhu, Z., Zhou, Q., & Sun, D. W. (2019). Measuring and controlling ice crystallization in frozen foods: A review of recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, 90, 13-25.

PUBLICATION

Investigation of the physico-chemical and microstructure changes of beef meat during frozen storage at -23°C

Saliha Lakehal^{1*}, Omar Bennoune¹, Ammar Ayachi¹

Abstract: Freezing beef meat is the most effective way to extend its storage life. However, there is little information about whether this practice alters the microstructure of beef and its effects on meat quality. For this reason, the object of our research was to determine the effect of frozen storage (one year at -23°C , with meat examined every two months) on physical, chemical and microstructural properties of beef in cuts of 20 Biceps femoris muscles. Significant physical changes were detected at different frozen storage durations, including increases in pH and yellowing (b^*), as well as decreases in water activity, lightness (L^*), and redness (a^*). In terms of chemical characteristics, the protein solubility in the beef reduced, but lipid oxidation (TBARS) values considerably rose with frozen storage duration. The width of ice crystals in frozen beef steadily increased as storage time was extended to 12 months, indicating structural changes in the frozen meat.

Keywords: beef, physico-chemical parameters, microstructure, freezing, storage time.

Introduction

Meat is an important part of a well-balanced and varied diet, since its nutritional components fulfil the demands of the majority of people for essential nutrients, including protein, minerals and vitamins (Rahman *et al.*, 2015). The worldwide beef meat export industry is valued over US\$ 13 billion, and demand is growing at a rate of 3.5 % each year (Leygonie *et al.*, 2012a). Freezing is frequently used in the food industry to preserve perishable substances for lengthy periods of time (Wang *et al.*, 2020). Freezing, in particular, is important for keeping meat safe, allowing the meat industry to tailor its production to customer demand, adapt meat output to processing rates, and export meat to all parts of the world. The freezing technique employed in meat preservation is mainly concerned with slowing the growth and proliferation of meat spoilage microorganisms as well as delaying other deleterious changes to colour, odour, texture, moisture and ultrastructure (Zhang *et al.*, 2019).

As a result of freezing, ice crystals cause mechanical damage, structural changes and protein denaturation in meat (Jeong *et al.*, 2011). Ice crystals disrupt the ultrastructure of meat and concentrate solutes, causing metabolic changes and influencing

the meat's physical qualities (Leygonie *et al.*, 2012b). One of these changes is a reduction in water-holding capacity that reduces the tenderness and the overall eating quality of the meat, lowering its commercial value (Kim *et al.*, 2015) frozen only, and 3 or 4. weeks ageing at -1.5°C then frozen. Protein oxidation also lowers meat quality by causing fragmentation or aggregation of proteins and diminishing protein solubility (Sun *et al.*, 2002). Phospholipids containing a wide variety of fatty acids including polyunsaturated fatty acids are the lipid component of meat that is most sensitive to oxidation. As a result, radical secondary lipid oxidation can be produced during meat freezing (Medić *et al.*, 2018), resulting in undesired alterations in meat quality (Deng *et al.*, 2021). Therefore, researchers must have a complete understanding of the physicochemical and structural changes caused by frozen storage of meat (Bertram *et al.*, 2007).

Numerous studies have reported on the impact of long-term preservation on physicochemical and biochemical changes in meat of different animal species (Muela *et al.*, 2015; Medić *et al.*, 2018;) although the influence of frozen holding temperatures was negligible. LL carbonyl, and nitrate and nitrite content responses were variable and yet broadly reflected an increased incidence of protein oxidation

¹ ESPA Laboratory, Department of Veterinary Sciences, Institute of Veterinary Science and Agricultural Sciences, Batna 1 University, Algeria.

*Corresponding author: Saliha Lakehal, lakehalsaliha@yahoo.fr

across increasing chilled storage and ensuing frozen storage periods — this aspect meriting future exploration. Total myoglobin content and the estimated myoglobin redox fractions (metmyoglobin, deoxymyoglobin, and oxymyoglobin). Regardless, there are just a few studies in the literature on the impact of ice crystal development on physico-chemical changes during long-term frozen beef storage. It appears important to highlight the consequences of these significant alterations due to freezing, in order to anticipate the quality of frozen beef. The aim of this study was to investigate the effect of prolonged frozen storage on the quality of beef by looking at the physicochemical changes of the meat and its tissue structure.

Materials and methods

Twenty randomly selected beef carcasses from a commercial slaughterhouse in the Algerian city of Batna were sampled. At 24 h postmortem, sections of the femoral biceps were selected. Each sample was divided into portions of equal approximate weight that were individually vacuum packed and frozen at -23°C in a freezer (CRF-NT64GF40, Condor, Algeria). The temperature during frozen storage was monitored with an infrared thermometer (TIA 101, China). Fresh samples ($n = 20$) were analysed before freezing then portions from the same muscle were analysed after 2, 4, 6, 8, 10 and 12 months of storage.

Determination of physico-chemical changes on fresh and frozen/thawed beef

Meat pH

Meat pH was measured according to the procedure of Zhu et al. (2020). A sample of beef (fresh or frozen/thawed) was minced, and 5 g of the mince was mixed for 1 min in 50 mL distilled water. The pH of the mixture was measured using an INOLAB digital pH meter.

Water activity (a_w)

Water activity (a_w) was measured using a BT-RS1 Rotronic Hygroscope as indicated by (Lakehal et al., 2019). The beef was cut into small pieces and placed in a three-quarter capacity sample cup. The probe was immediately placed in the sample cup. The result was read as soon as the humidity and temperature readings stabilized.

Colour measurement

The surface colour of beef samples was determined by a computer vision system (CVS) as described by Tomasevic et al. (2019), using a digital camera (Canon DS126621) mounted in a black box supplied with standard illumination (6500 K) positioned at an angle of 45° from the sample to obtain uniform lighting. The colour was analysed quantitatively using Adobe Photoshop CS3 software to assess lightness (L^*), redness (a^*) and yellowness (b^*).

Protein solubility

Protein solubility was measured according to the method of Zhang et al. (2017) with minor modifications. Total protein was extracted from a 1 g sample of the beef using 10 mL of ice-cold solution (1.1 M potassium iodide in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.2). The samples of beef meat were minced, homogenised in the ice-cold solution in an ice bath, and then refrigerated for 20 h. Following centrifugation (2600 g, 30 min, 4°C), the protein in the supernatant was quantified using the Biuret assay. Protein solubility was calculated in milligrams of protein per gram of beef.

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)

TBARS measurements indicated fat oxidation in the frozen meat according to the protocol described by Buege and Aust, (1978). Minced beef (4 g) and 40 ml distilled water were mixed for 1 min. After that, 1 ml of the solution was combined with 2 ml of a solution containing TCA-TBA-HCl reagent (15% w/v trichloroacetic acid; 0.375% w/v thiobarbituric acid; 0.25 N hydrochloric acid). The mixture was boiled for 20 min in a water bath. The resulting solution was cooled for 10 min under running water. The absorbance of the resulting top layer was measured at 532 nm. The amount of TBARS was expressed as nmol of malondialdehyde/g of beef using a molar extinction value of $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Microstructure of meat

The microstructure of meat was studied according to the method of Su et al. (2014) fresh shrimp and porcine liver were frozen by PSF at 100 MPa (-8.4°C). To begin, meat samples were fixed in Clarke's solution (75% absolute ethanol and 25% glacial acetic acid) at -23°C for 24 h. After that, the samples were equilibrated to room temperature, then dehydrated with ethanol gradients according to the protocols and techniques defined previously (Luna, 1968) and then were immersed in xylene and paraffin at 58°C . After that, each sample was paraffin-embedded and trapped

in paraffin blocks. Blocks were sliced into 6 μm thick slices with a microtome (Leica, Jung-histocut 820) and resultant sections were placed on glass slides, dewaxed, and stained with Calleja solution for later microscopic analysis. Finally, a microscope (Zeiss Axio-scope) equipped with a digital camera (SLS-Mvision) was used to examine all of the prepared the sectioned tissues. The intracellular location of each ice crystal, as well as the number and average diameter of ice crystals in each cell, was computed after the intracellular ice crystals (white voids) were delimited.

Statistical analysis

Results were statistically evaluated using the SPSS software version 20 (IBM SPSS Statistics v22). Analysis of variance (one-way ANOVA) techniques and Tukey's multiple comparison tests were employed to examine for differences among the data acquired. Results are presented as means with standard deviations.

Results and discussion

Beef meat pH

It was observed that the pH of beef samples increased with the extended frozen storage period, as shown in (Figure 1). According to *Ho et al.* (2020), accumulation of free amino acids, ammonia and organic sulphides derived from the hydrolysis of proteolytic amines might be considered to be the primary cause

of the elevated pH. In this study, amino acids were not measured, but in another study, the changes of free amino acids during frozen storage of lamb meat were measured, and authors concluded that the increase in pH was due to the increase in free basic amino acids (*Braggins et al.*, 1999). Commonly, the increase of pH could be mainly associated with the increase of alkaline substances (*Farouk and Swan*, 1998).

Water activity (a_w)

Figure 2 shows the water activity (a_w) in the beef changed during frozen storage. The a_w in fresh samples averaged 0.945, but a_w in all beef samples decreased dramatically as storage duration increased after two months. Although the a_w dropped after freezing, it rose for about ten months before dropping again at the conclusion of storage (12 months). Variations in a_w are linked to fluid movement and ice crystallization (*He et al.*, 2015). Our results are in agreement with those of others (*Medić et al.*, 2018), who detected a change in pork a_w after 18 months' freezing. Nonetheless, one study (*Coombs et al.*, 2017) at 24 h post-mortem, and assigned to five chilled storage periods (0, 2, 4, 6 and 8 weeks found no changes in a_w in frozen lamb meat for two freezing temperatures (-12 and -18°C) during a 52-week period. It has been demonstrated that unfavourable reactions are frequently linked to a food's a_w rather than its water content (*Black and Jaczynski*, 2008).

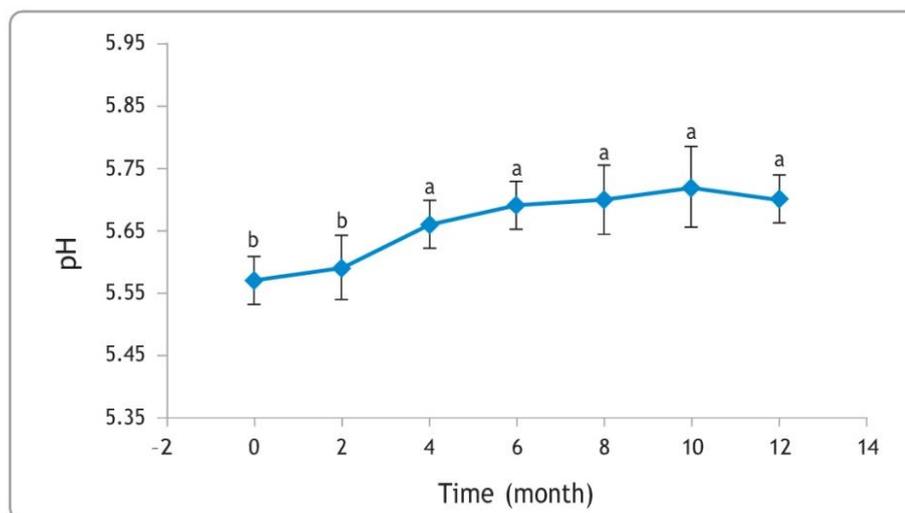


Figure 1. Beef pH during frozen storage.

Legend: a, b different letters show a statistically significant difference ($p < 0.05$)

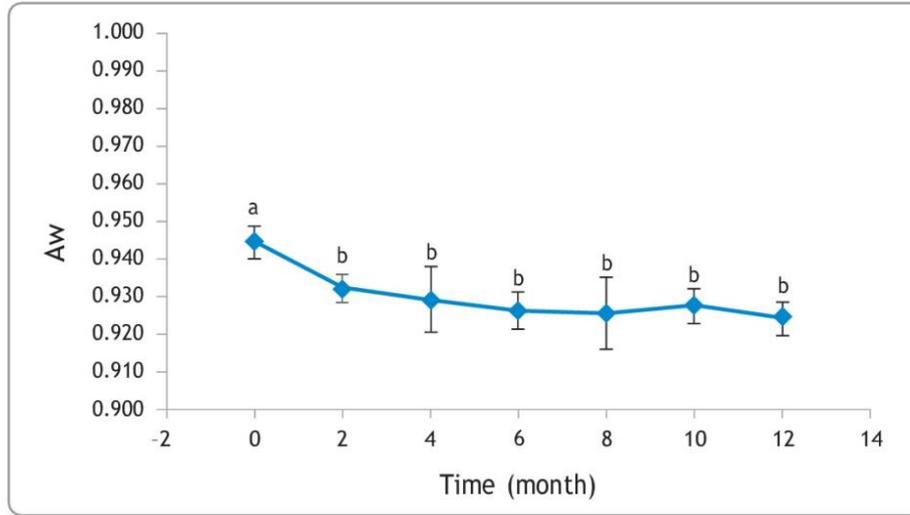


Figure 2. a_w of frozen beef during storage.

Legend: ^{a, b} different letters show a statistically significant difference ($p < 0.05$)

Colour evaluation

Table 1 shows colour value changes (CIE L^* , a^* , and b^*) occurred during frozen storage. Our results showed that from the fourth month of frozen storage, a significant decrease of (L^*) occurred. Decrease in meat lightness due to freezing was reported earlier (Muela et al., 2015; Hou et al., 2020) and was explained by the structural changes in the meat caused by myofibrillar protein degradation during the storage (Wang et al., 2020). After 11 months of frozen storage, the values of (a^*) were significantly lower than in the fresh meat ($p < 0.05$). Hansen et al. (2004) also found that, after 30 months, (a^*) levels decreased with frozen storage. According to Alonso et al. (2016), the lowering in (a^*) values could be related to myoglobin denaturation during frozen processing. On the other hand, in our study, (b^*) values were obviously increased by frozen storage from the 6th month ($p < 0.05$). Several previous studies reported an increase in meat yellowness (b^*) (Hansen et al., 2004; Vieira et al., 2009; De

Paula Paseto Fernandes et al., 2013; Coombs et al., 2017). This change could be explained by the oxidation of fat and protein degradation during frozen storage (Estévez, 2011; Muela et al., 2015). Meat colour is a crucial factor for consumers when evaluating meat quality, and it is also the most popular determinant of whether or not to buy frozen meat (Zhang et al., 2019).

Protein solubility

With increasing frozen storage duration, protein solubility in frozen/thawed beef samples showed a significant tendency to decrease ($p < 0.05$) (Figure 3). Protein solubility dropped from 111.65 mg/g to 77.25 mg/g by the end of storage. Nahar et al. (2014) and Farouk and Swan (1998) found similar reductions in protein solubility in frozen chicken and beef meat, respectively. In the food sector, protein solubility is an extremely important parameter. Protein solubility has been frequently employed as a good indicator of

Table 1. Changes in CIE $L^*a^*b^*$ of beef muscles during frozen storage

	Frozen storage time (Months)						
	Fresh meat	2	4	6	8	10	12
CIE L^*	42.83 ^a	42.67 ^a	40 ^{ab}	38.50 ^b	38.33 ^b	39.17 ^{ab}	38.16 ^b
CIE a^*	15 ^a	15 ^a	15.67 ^a	15.67 ^a	15.5 ^a	12.83 ^b	12 ^b
CIE b^*	5.17 ^c	5.5 ^c	7 ^{bc}	9.43 ^a	9.67 ^a	8.93 ^a	9.69 ^a

Legend: CIE $L^*a^*b^*$ — light reflectance scores; ^{a,b,c} different letters in the same row show statistically significant difference ($P < 0.05$).

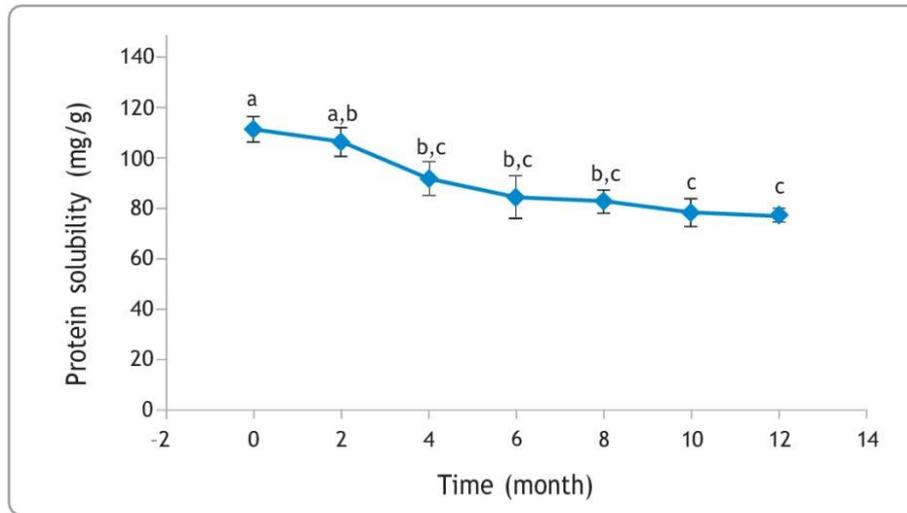


Figure 3. Protein solubility of beef during frozen storage.

Legend: a, b, c different letters show a statistically significant difference ($P < 0.05$).

protein denaturation (Nahar *et al.*, 2014) because it is easy to test and has a high association with meat texture (de Koning and Mol, 1991). According to Chan *et al.* (2011), protein solubility is significantly reduced during freezing storage, and this reduction could be associated with sensitivity of proteins to temperature-induced aggregation. It is also worth noting that the dynamics of ice formation had an impact on the solubility of proteins (Farouk and Swan, 1998). In addition, the freezing process effectively contributes to protein damage, as it is the main culprit in the

appearance of intracellular ice crystals and, thus, it mechanically weakens meat's protein structures and causes their further fragmentation (Zhou *et al.*, 2018).

TBARS evaluation

Figure 4 shows the mean TBARS value was 0.172 mg/kg on day 0 and it increased significantly ($p < 0.05$) during frozen storage up to a maximum value at 12 months (0.870 mg/kg). Despite the fact that no sensory analysis was undertaken in this

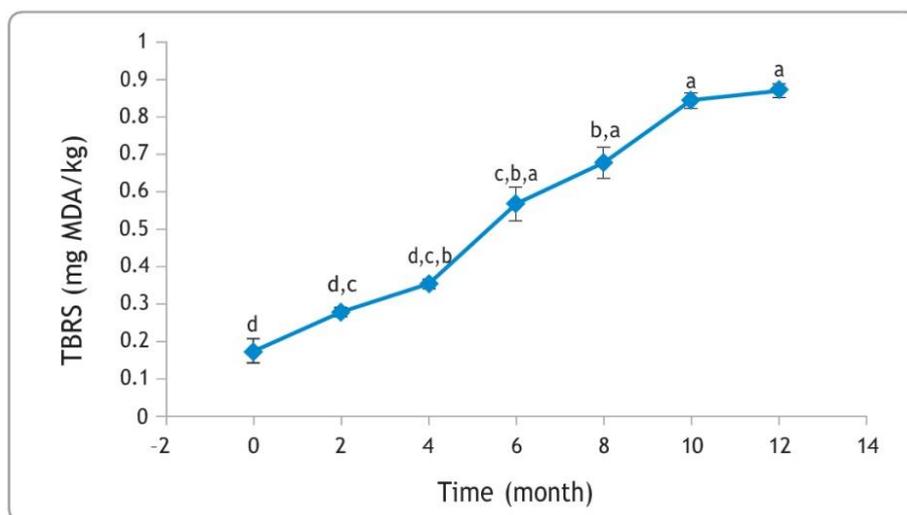


Figure 4. TBARS values in beef during frozen storage.

Legend: a, b, c, d different letters show a statistically significant difference ($P < 0.05$)

study, the final TBARS values achieved in this work did not reach the flavour criterion (>1.0 MDA mg/kg) above which an undesirable odour and a rancid taste could result (Ripoll et al., 2011). The TBARS parameter indicates secondary oxidation products, which result from the hydrolysis of polyunsaturated fats, and which relate to unpleasant flavours in meat and meat products (Sun et al., 2019). Also, oxidation of lipids can cause denaturation of proteins, which changes their structure, causes peptide scission (Saeed and Howell, 2002) and changes their

functional qualities, such as their water holding capacity (Cao et al., 2018; Zhou et al., 2018). The TBARS value is the main indicator of fat oxidation in food (Turgut et al., 2017).

Microscopic observation

Figure 5(A–G) shows microscopic images of the beef meat at different frozen storage durations. Figure 5A shows a typical microscopic image of the beef meat before freezing for the purpose of comparison

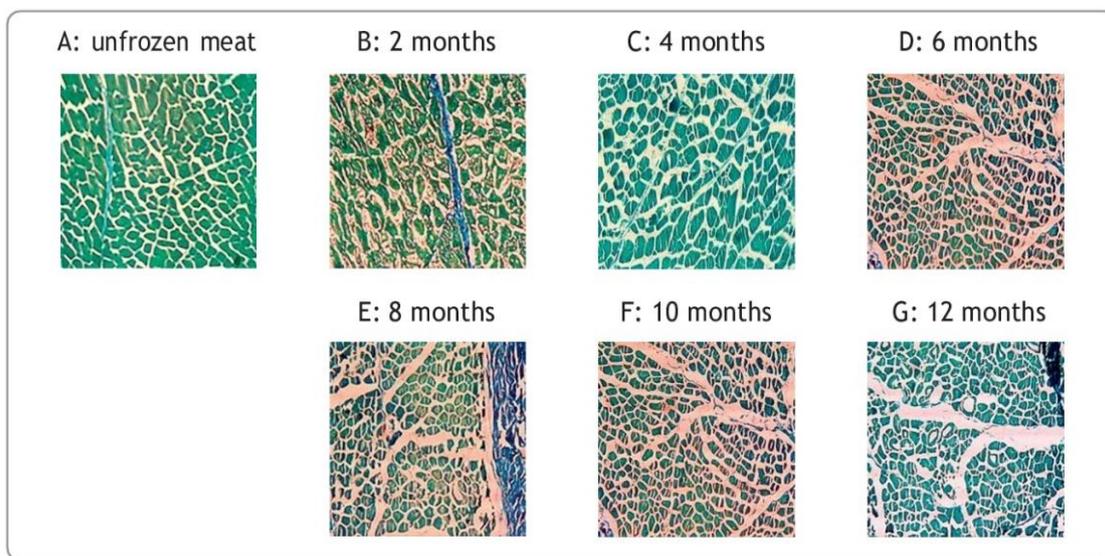


Figure 5. Changes in microstructural cross section of frozen beef meat with time. *Calleja stain*; ×100.

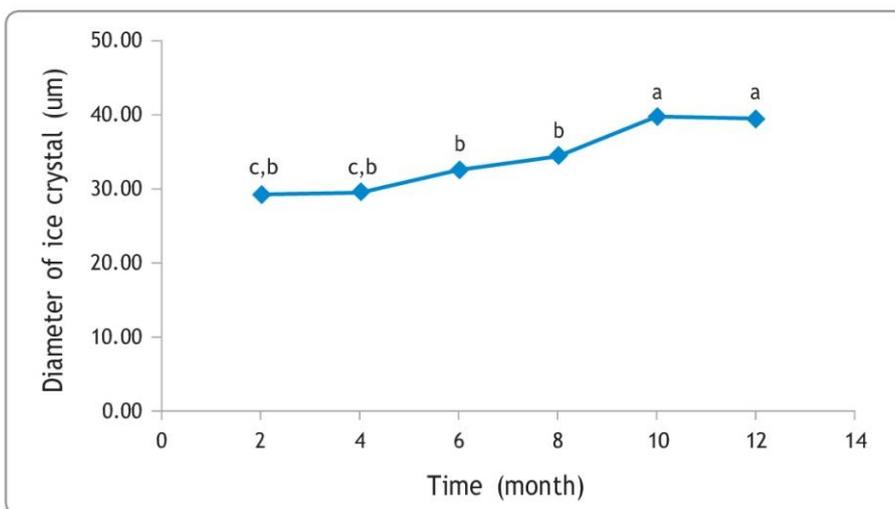


Figure 6. Mean diameter of ice crystals during frozen storage
 Legend: a, b, c, different letters show a statistically significant difference ($p < 0.05$)

with frozen meat (Figure 5B-G). The fresh, unfrozen beef (Figure 5A) had uniform distribution of regularly formed fibres. At the end of two months of frozen storage, small vacuoles, formed from ice crystals in the meat, were observed (Figure 5B). After 12 months of storage, the intracellular ice crystals appeared larger and the space between fibres was greater (Figure 5G). The main factor affecting the texture of meat is structural changes related to the relationship between proteins and water molecules (Nakazawa *et al.*, 2019). Generally, lowering the storage temperature is a good technique to keep meat fresh for a long time (Zhang *et al.*, 2019). However, the crystallization of water in the tissue might result in an increase in the solute concentration during frozen storage, followed by the separation of the endomysium and the expansion of the perimysium, which results in a decrease in cell size and an expansion of the extracellular space (Shi *et al.*, 2018; Tolstorebrov *et al.*, 2016).

By analysing the data obtained from microscopic images (Figure 5), we noted that ice crystal diameters showed an ascendant trend as storage duration prolonged. The diameter of ice crystals increased from 29.09 μm after 2 months to 39.34 μm after 12 months, with significant differences ($p > 0.05$)

between them (Figure 6). Jiang *et al.* (2020) distribution of water and freshness properties of grass carp during frozen storage was investigated. The freezing methods contained air-blast freezing (AF demonstrated that recrystallization during frozen storage could cause expansion of voids inside muscle fibres.

Conclusion

In general, our results showed that the physical properties of beef meat are significantly affected by frozen storage, and these effects evolve during the meat's frozen storage at -23°C . Freezing increased the pH and yellowing (b^*) of the meat, while the lightness (L^*), redness (a^*) and a_w decreased. Based on TBAS values, it was deduced that the beef was of a quality that was adequate for processing after 12 months of frozen storage. However, a continuous decrease in protein solubility was observed during the 12 months of storage. The microstructure of the beef visually showed a gradual increase in the diameter of intra-tissue ice crystals with increased frozen storage duration, which means the muscle tissue was undergoing fracture.

Ispitivanje promena fizičko-hemijske i mikrostrukture govedeg mesa tokom skladištenja na niskoj temperaturi

Saliha Lakehal, Omar Bennoune, Ammar Ayachi

Aps t r a k t: Zamrzavanje govedeg mesa je najefikasniji način da se produži dužina odn. trajanje njegovog skladištenja. Međutim, malo je informacija o tome da li ova praksa menja mikrostrukturu govedjeg mesa, kao i o njenom uticaju na kvalitet. Iz tog razloga, cilj našeg istraživanja je bio da se utvrdi uticaj šest perioda skladištenja u zamrznutom stanju na fizička, hemijska i mikrostrukturna svojstva govedeg mesa u komadima mišića biceps femoris (20). Značajne fizičke promene su otkrivene u različitim vremenima skladištenja, uključujući povećanje pH i intenziteta žute boje (b^*), kao i smanjenje aktivnosti vode, svetlost (L^*) i crvene boje (a^*). Zatim, u pogledu hemijskih karakteristika, rastvorljivost proteina u uzorcima govedjeg mesa je smanjena, ali su vrednosti oksidacije lipida (TBA) znatno porasle. Širina ledenih kristala u smrznutim uzorcima stalno se povećavala kako se vreme skladištenja produžavalo na 12 meseci, što ukazuje na strukturne promene u smrznutim mišićima.

Ključne reči: govede meso, fizičko-hemijski parametri, mikrostruktura, zamrzavanje, vreme skladištenja.

Disclosure statement: No potential conflict of interest was reported by authors.

References

- Alonso, V., Muela, E., Tenas, J., Calanche, J. B., Roncalés, P. & Beltrán, J. A. (2016). Changes in physicochemical properties and fatty acid composition of pork following long-term frozen storage. *European Food Research and Technology*, 242 (12), 2119–2127. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2708-y>
- Bertram, H. C., Andersen, R. H. & Andersen, H. J. (2007). Development in myofibrillar water distribution of two pork qualities during 10-month freezer storage. *Meat Science*, 75 (1), 128–133. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.06.020>
- Black, J. L. & Jaczynski, J. (2008). Effect of water activity on the inactivation kinetics of *Escherichia coli* O157:H7 by electron beam in ground beef, chicken breast meat, and trout fillets. *International Journal of Food Science and Technology*, 43 (4), 579–586. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01480.x>
- Braggins, T. J., F., D. A., A., P., M. & Podmore, C. (1999). Changes in pH and free amino acids in sheepmeat during extended chilled storage. In 45th International Conference of Meat Science & Technology. Yokohama, Japan.
- Buege, J. A. & Aust, S. (1978). Microsomal lipid peroxidation. In F. S & P. L (Eds.), *Methods in Enzymology* (Academic P, pp. 109–302). New York.
- Cao, J. X., Zhou, C. Y., Wang, Y., Sun, Y. Y. & Pan, D. D. (2018). The effect of oxidation on the structure of G-actin and its binding ability with aroma compounds in carp grass skeletal muscle. *Food Chemistry*, 240, 346–353. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.068>
- Chan, J. T. Y., Omana, D. A. & Betti, M. (2011). Effect of ultimate pH and freezing on the biochemical properties of proteins in turkey breast meat. *Food Chemistry*, 127 (1), 109–117. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.095>
- Coombs, C. E. O., Holman, B. W. B., Collins, D., Friend, M. A. & Hopkins, D. L. (2017). Effects of chilled-then-frozen storage (up to 52 weeks) on lamb M. longissimus lumborum quality and safety parameters. *Meat Science*, 134 (July), 86–97. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.07.017>
- de Koning, A. J. & Mol, T. H. (1991). Quantitative quality tests for frozen fish: Soluble protein and free fatty acid content as quality criteria for hake (*Merluccius capensis*) stored at -18°C. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 54 (3), 449–458. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740540316>
- De Paula Paseto Fernandes, R., de Alvarenga Freire, M. T., da Costa Carrer, C. & Trindade, M. A. (2013). Evaluation of physicochemical, microbiological and sensory stability of frozen stored vacuum-packed lamb meat. *Journal of Integrative Agriculture*, 12 (11), 1946–1952. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(13\)60632-2](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60632-2)
- Deng, S., Han, Y., Gao, T., Ye, K. & Liu, J. (2021). Effect of temperature fluctuation during frozen storage on beef quality. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45 (1), 0–2. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15043>
- Estévez, M. (2011). Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Science*, 89 (3), 259–279. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.025>
- Farouk, M. M. & Swan, J. E. (1998). Effect of Rigor temperature and frozen storage on functional properties of hot-boned manufacturing beef. *Meat Science*, 49 (2), 233–247. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(97\)00134-4](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(97)00134-4)
- Hansen, E., Juncher, D., Henckel, P., Karlsson, A., Bertelsen, G. & Skibsted, L. H. (2004). Oxidative stability of chilled pork chops following long term freeze storage. *Meat Science*, 68 (3), 479–484. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.05.002>
- He, Q., Zhu, L., Shen, Y., Lin, X. & Xiao, K. (2015). Evaluation of the effects of frozen storage on the microstructure of tilapia (Perciformes: Cichlidae) through fractal dimension method. *LWT — Food Science and Technology*, 64, 1283–1288. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.036>
- Hou, Q., Cheng, Y. ping, Kang, D. Cheng, Zhang, W. gang & Zhou, G. Hong. (2020). Quality changes of pork during frozen storage: comparison of immersion solution freezing and air blast freezing. *International Journal of Food Science and Technology*, 55 (1), 109–118. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14257>
- Jeong, J. Y., Kim, G. D., Yang, H. S. & Joo, S. T. (2011). Effect of freeze-thaw cycles on physicochemical properties and color stability of beef semimembranosus muscle. *Food Research International*, 44 (10), 3222–3228. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.08.023>
- Jiang, Q., Yin, T., Yang, F., Yu, D., Xu, Y., Tie, H. & Xia, W. (2020). Effect of freezing methods on quality changes of grass carp during frozen storage. *Journal of Food Process Engineering*, 43 (11). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13539>
- Kim, Y. H. B., Liesse, C., Kemp, R. & Balan, P. (2015). Evaluation of combined effects of ageing period and freezing rate on quality attributes of beef loins. *Meat Science*, 110, 40–45. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.06.015>
- Lakehal, S., Bennoune, O. & Ayachi, A. (2019). Application of Histological and Physico-Chemical Analyses for Evaluation of Meat Product — Cachir. *Meat Technology*, 60 (1), 24–29. <https://doi.org/10.18485/meattech.2019.60.1.4>
- Leygonie, C., Britz, T. J. & Hoffman, L. C. (2012a). Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Science*, 91 (2), 93–98. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.013>
- Leygonie, C., Britz, T. J. & Hoffman, L. C. (2012b). Meat quality comparison between fresh and frozen/thawed ostrich M. iliofibularis. *Meat Science*, 91 (3), 364–368. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.02.020>
- Luna, I. G. (1968). *Manual of histology Staining methods of the armed force institute & pathology* (Hill Book). New York.
- Medić, H., Djurkin Kušec, I., Pleadin, J., Kozačinski, L., Njari, B., Hengl, B. & Kušec, G. (2018). The impact of frozen storage duration on physical, chemical and microbiological properties of pork. *Meat Science*, 140, 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.03.006>
- Muela, E., Monge, P., Sañudo, C., Campo, M. M. & Beltrán, J. A. (2015). Meat quality of lamb frozen stored up to 21 months: Instrumental analyses on thawed meat during display. *Meat Science*, 102, 35–40. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.12.003>

- Nahar, M. K., Zakaria, Z. & Hashim, U. (2014). Protein solubility behaviour of fresh and frozen chicken meat in slaughtering and non slaughtering condition. *International Food Research Journal*, 21 (1), 135–137.
- Nakazawa, N., Wada, R., Fukushima, H., Tanaka, R., Kono, S. & Okazaki, E. (2019). Effect of long-term storage, ultra-low temperature, and freshness on the quality characteristics of frozen tuna meat. *International Journal of Refrigeration*. <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2019.12.012>
- Rahman, M. H., Hossain, M. M., Rahman, S. M. E., Amin, M. R. & Oh, D. H. (2015). Evaluation of physicochemical deterioration and lipid oxidation of beef muscle affected by freeze-thaw cycles. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 35 (6), 772–782. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2015.35.6.772>
- Ripoll, G., Joy, M. & Muñoz, F. (2011). Use of dietary vitamin E and selenium (Se) to increase the shelf life of modified atmosphere packaged light lamb meat. *Meat Science*, 87 (1), 88–93. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.09.008>
- Saeed, S. & Howell, N. K. (2002). Effect of lipid oxidation and frozen storage on muscle proteins of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82 (5), 579–586. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1080>
- Shi, L., Yang, T., Xiong, G., Li, X., Wang, X., Ding, A. & Wang, L. (2018). Influence of frozen storage temperature on the microstructures and physicochemical properties of pre-frozen perch (*Micropterus salmoides*). *Lwt – Food Science and Technology*, 92, 471–476. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.063>
- Su, G., Ramaswamy, H. S., Zhu, S., Yu, Y., Hu, F. & Xu, M. (2014). Thermal characterization and ice crystal analysis in pressure shift freezing of different muscle (shrimp and porcine liver) versus conventional freezing method. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 26, 40–50. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.05.006>
- Sun, Q., Senecal, A., Chinachoti, P. & Faustman, C. (2002). Effect of water activity on lipid oxidation and protein solubility in freeze-dried beef during storage. *Journal of Food Science*, 67 (7), 2512–2516. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08768.x>
- Sun, Qinxu, Sun, F., Xia, X., Xu, H. & Kong, B. (2019). The comparison of ultrasound-assisted immersion freezing, air freezing and immersion freezing on the muscle quality and physicochemical properties of common carp (*Cyprinus carpio*) during freezing storage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 51, 281–291. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.10.006>
- Tolstorebrov, I., Eikevik, T. M. & Bantle, M. (2016). Effect of low and ultra-low temperature applications during freezing and frozen storage on quality parameters for fish. *International Journal of Refrigeration*, 63, 37–47. <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2015.11.003>
- Tomasevic, I., Tomovic, V., Ikonc, P., Lorenzo Rodriguez, J. M., Barba, F. J., Djekic, I. & Zivkovic, D. (2019). Evaluation of poultry meat colour using computer vision system and colourimeter: Is there a difference? *British Food Journal*, 121(5), 1078–1087. <https://doi.org/10.1108/BFJ-06-2018-0376>
- Turgut, S. S., Işikçi, F. & Soyer, A. (2017). Antioxidant activity of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during frozen storage. *Meat Science*, 129, 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.02.019>
- Vieira, C., Diaz, M. T., Martínez, B. & García-Cachán, M. D. (2009). Effect of frozen storage conditions (temperature and length of storage) on microbiological and sensory quality of rustic crossbred beef at different states of ageing. *Meat Science*, 83 (3), 398–404. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.013>
- Wang, Y., Wang, X., Wang, Z., Li, X., Li, C. & Xu, B. (2020). Effects of different freezing methods on the quality of conditioned beef steaks during storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44 (7), 1–11. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14496>
- Zhang, M., Xia, X., Liu, Q., Chen, Q. & Kong, B. (2019). Changes in microstructure, quality and water distribution of porcine longissimus muscles subjected to ultrasound-assisted immersion freezing during frozen storage. *Meat Science*, 151 (December 2018), 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.01.002>
- Zhang, X., Gao, T., Song, L., Zhang, L., Jiang, Y., Li, J. L. & Zhou, G. H. (2017). Effects of different thawing methods on the quality of chicken breast. *International Journal of Food Science and Technology*, 52 (9), 2097–2105. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13488>

Paper received: October 11th 2021.

Paper accepted: November 9th 2021.

RÉSUMÉ

Résumé

La congélation est l'une des méthodes privilégiées et prépondérante pour la conservation la viande à long terme. Cependant, le produit reste le siège de réactions physiques et biochimiques susceptibles de compromettre ses qualités organoleptiques à long terme. L'objectif de cette étude était de déterminer l'évolution de la qualité de la viande bovine conditionnée sous vide et conservée au congélateur (-23°C) à six périodes de stockage congelé (0, 2, 4, 6, 8, 10 et 12 mois).

Des changements significatifs dans les paramètres physiques ont été détectés à différentes périodes de stockage congelé, y compris une augmentation du pH, du jaunissement (b^*) et l'exsudat total, ainsi qu'une diminution de l'activité de l'eau, de la luminosité (L^*) et du brunissement (a^*). En termes de caractéristiques chimiques, la solubilité des protéines dans la viande a diminué, mais les valeurs d'oxydation des lipides (TBARS) ont considérablement augmenté avec la durée de stockage à l'état congelé. L'analyse histomorphométrique a révélé que la distribution de la taille des cristaux de glace s'est élargie tout au long du stockage et que la taille moyenne des cristaux a augmenté, provoquant des changements microstructuraux directement liés à la qualité finale de la viande congelée.

Mots clés : viande bovine, entreposage congelé, paramètres physico-chimiques, microstructure.

التلخيص

يعد التجميد من الطرق المفضلة والأكثر أهمية للحفاظ على اللحوم على المدى الطويل. ومع ذلك، يظل المنتج مركزاً للتفاعلات الفيزيائية والكيميائية الحيوية التي تضر بصفاته. الفيزيائية والكيميائية والبنية الدقيقة على المدى الطويل. كان الهدف من هذه الدراسة هو تحديد تطور جودة لحم البقر (العضلة ذات الرأسين الفخذية) المعبأة بالتفريغ وتخزينها في المجمد (-23 درجة مئوية) في ستة فترات تخزين مجمدة (0 ، 2 ، 4 ، 6 ، 8 ، 10) و 12 شهرًا.

تم الكشف عن تغييرات كبيرة في الخصائص الفيزيائية في فترات مختلفة من التخزين المجمد، بما في ذلك زيادة في أس هيدروجيني، والاصفرار (b^*) وفقدان السوائل، وكذلك انخفاض في نشاط الماء، واللمعان (L^*) والاحمرار (a^*).

من حيث الخصائص الكيميائية، انخفضت قابلية ذوبان البروتين في اللحوم، لكن قيم أكسدة الدهون (TBARS) زادت بشكل ملحوظ مع مدة التخزين المجمد. كشف التحليل النسيجي أن توزيع حجم بلورات الثلج اتسع خلال التخزين وأن متوسط حجم البلورة زاد، مما تسبب في تغييرات هيكلية مجهرية مرتبطة مباشرة بالجودة النهائية للحوم المجمدة.

الدالة: لحمالبقر، التخزين بالمجمد، الخصائص الفيزيائية والكيميائية، البنية المجهرية

Summary

Freezing is the preferred and most important way to preserve meat for the long term. However, the product remains the center of physical and biochemical reactions that are likely to compromise its physical and chemical qualities as well as its microstructure for long-term. The aim of this study was to determine the quality progression of beef vacuum packed and stored in the freezer (-23°C) at five frozen storage periods (0, 2, 4, 6, 8, 10) and 12 months.

Significant changes in physical properties were detected at different periods of frozen storage, including an increase in pH, yellowness (b*) and fluid loss, as well as a decrease in water activity, lightness (L*) and redness (a*). In terms of chemical properties, the solubility of protein in meat decreased, but the values of fat oxidation (TBARS) significantly increased with the duration of frozen storage. Histomorphological analysis revealed that the ice crystal size distribution widened during storage and that the average crystal size increased, causing microstructural changes directly related to the final quality of frozen meat.

Keywords: beef meat, frozen storage, physical and chemical properties, microstructure