

Université du Québec

INRS-Institut Armand Frappier

**Radiosensibilisation d'*Escherichia coli* O157:H7  
et *Salmonella* Typhi en présence de composés bioactifs  
dans de la viande de bœuf haché mi-maigre**

Par

Mélanie Turgis

pour l'obtention

du grade de Maître ès science (M. Sc.)

en Microbiologie Appliquée

Mélanie Turgis, 2007

---

## Table des matières

Résumé.....	IV
Abréviations.....	VI
Liste des tableaux.....	VIII
Liste des figures.....	XI
Introduction .....	1
Chapitre 1 .....	4
1. Le bœuf.....	5
1.1. La viande hachée.....	5
1.2. Le bœuf haché.....	6
2. Qualité nutritionnelle du bœuf haché.....	8
3. Aspect économique.....	8
4. Microbiologie du bœuf haché.....	9
4.1. Flore microbienne.....	9
4.2. Mode de contamination.....	10
4.3. Normes microbiennes en vigueur.....	12
5. Les infections alimentaire.....	14
5.1. <i>Salmonella</i> Typhi.....	15
5.2. <i>Escherichia coli</i> O157:H7.....	18
5.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	20
6. Durée de conservation de la viande fraîche.....	20
7. Mode de conservation.....	21
7.1. Appertisation.....	21
7.2. L'atmosphère modifiée.....	22
7.3. La congélation.....	23
8. Facteurs prolongeant la durée de conservation.....	23
8.1. La cuisson.....	23
8.2. Le fumage.....	24
8.3. L'irradiation.....	24

9. Facteurs réduisant la durée de conservation.....	33
10. Les épices.....	35
10.1. Provenance et utilisation des épices.....	35
10.1.1. La moutarde.....	35
10.1.2. La cannelle.....	35
10.1.3. L'origan.....	36
10.2. L'aspect organoleptique des huiles essentielles.....	36
10.3. Les huiles essentielles.....	37
10.3.1. La composition des huiles essentielles.....	38
10.3.2. Les tests d'activités antimicrobiennes dans les aliments.....	39
10.3.3. Les modes d'action des huiles essentielles.....	41
Hypothèses.....	42
Objectifs .....	42
Chapitre 2 .....	44
Article 1 : Effect of selected plant essential oils or their main constituents and modified atmosphere packaging on the radiosensitization of <i>Escherichia coli</i> O157:H7 and <i>Salmonella</i> Typhi in ground beef.....	45
Chapitre 3 .....	66
Analyse sensorielle du bœuf haché avec différentes concentration en huiles essentielles sélectionnées.....	67
1. Choix des huiles essentielles.....	67
2. Préparation des échantillons.....	67
3. Méthode de cuisson.....	67
4. Jury .....	68
5. Méthode utilisée.....	68
6. Effet des huiles essentielles sur la qualité organoleptique du bœuf haché.....	69
Chapitre 4.....	71
Article 2 : Combined effect of natural endogenous compound, modified atmosphere and gamma irradiation on the microbial composition of ground beef.....	72
Chapitre 5 .....	103
Discussion .....	104

1. Effets de l'irradiation gamma en présence d'huile essentielle dans le bœuf haché....	105
2. Effets des huiles essentielles sur la qualité organoleptique du bœuf haché.....	109
3. Durée de vie du bœuf haché en présence de sa microflore, avec un emballage sous air ou sous atmosphère modifiée, combinée à l'irradiation et la présence d'huiles essentielles aux concentrations qui n'affectent pas le goût.....	111
Conclusion .....	115
Remerciements.....	118
Références bibliographiques.....	119

## Résumé

*Salmonella* spp. et *Escherichia coli* sont des bactéries pathogènes qui infestent la majorité des viandes de bœuf haché commercialisées à travers le monde, causant ainsi des maladies infectieuses. Pour éliminer les germes pathogènes et augmenter la durée de conservation du bœuf haché, l'appel au procédé d'irradiation est une solution raisonnable qui est acceptée au États-Unis et préconisée dans d'autres pays. Toutefois l'irradiation à des doses requises pour la destruction totale des germes pathogènes peut parfois générer des modifications chimique et organoleptique dans certains produits comme la viande de bœuf.

Afin de remédier à ces modifications, notre étude préconise d'utiliser des prétraitements associés à l'irradiation. L'utilisation de combinaisons de traitements : l'ajout d'huiles essentielles et de leurs composés majoritaires à des concentrations qui n'affectent pas le goût de la viande et l'irradiation sous atmosphère modifiée.

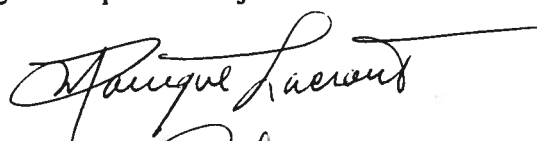
Dans le cadre de cette étude, nous évaluerons dans un premier temps, l'efficacité de l'irradiation à augmenter la radiosensibilité bactérienne de *Salmonella* Typhi et *Escherichia coli* O157:H7 dans du bœuf haché mi-maigre (23% de gras) en présence d'huiles essentielles. Plus de vingt six huiles essentielles ont été évaluées.

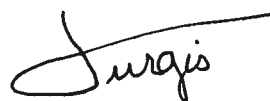
Le bœuf haché a été inoculé avec *E. coli* O157:H7 ou *Salmonella* ( $10^6$ UFC/g) et chaque huile essentielle ou un des composés majoritaires a été ajouté séparément à une concentration de 0.5% (P/P). Les échantillons de viande (10g) ont été emballés sous air et irradiés au  $^{60}\text{Co}$  à des doses de 0 à 1kGy pour déterminer la  $D_{10}$  de *E. coli* O157:H7 et de 0 à 1.75kGy pour déterminer la  $D_{10}$  de *S. Typhi*. Il a été observé qu'en fonction du composé testé, il y a une augmentation de la sensibilité relative de 1 à 3.57 pour *E. coli* O157:H7 et

de 1 à 3.26 pour *S. Typhi*. Les résultats montrent que l'addition d'huiles essentielles ou de l'un de leurs composés majoritaires avant le traitement d'irradiation permet de réduire la dose d'irradiation nécessaire pour éliminer les deux pathogènes. Parmi les huiles les plus performantes, on note l'huile essentielle de cannelle de Chine, et d'origan d'Espagne, qui a permis de réduire la dose minimale pour éliminer les bactéries de 1.2 à 0.35 kGy pour *E. coli* O157:H7 et de 1.4 à 0.5kGy pour *S. Typhi*. Les huiles essentielles de cannelle, d'origan et de moutarde sont les huiles essentielles sélectionnées pour leur efficacité à augmenter la radiosensibilité.

Les huiles essentielles les plus performantes sélectionnées ont ensuite été ajoutées à la viande à différentes concentrations pour réaliser les analyses sensorielles, à l'aide d'un jury, afin de déterminer à quelle concentration les huiles essentielles de cannelle de Chine, d'origan d'Espagne et de moutarde n'affectent pas le goût de la viande. Les résultats n'ont montré aucune différence significative ( $p > 0.05$ ) entre le bœuf haché sans huile essentielle et le bœuf haché en présence de 0.025% d'huile essentielle de cannelle de Chine ou d'origan d'Espagne et de 0.075% d'huile essentielle de moutarde.

Les meilleures combinaisons de traitement pour éliminer *E. coli* O157:H7 et *S. Typhi* sont maintenant découvertes. Elles ont été testées au cours du temps sur une durée de 28 jours. Les résultats montrent qu'un traitement avec les huiles essentielles (moutarde, cannelle de Chine ou origan d'Espagne) et un traitement d'irradiation à une faible dose (1.5 kGy) ont un effet synergique pour réduire et stabiliser la charge microbienne du bœuf haché. Ces traitements combinés à l'utilisation d'un emballage sous atmosphère modifiée permettent d'étendre la durée de vie et d'assurer l'innocuité du bœuf haché au cours du stockage à 4°C pendant 28 jours.

  
Professeur



## **Abréviations**

**ADN : Acide désoxyribonucléique**

**ATP : Adénosine triphosphate**

**Aw : Activité de l'eau**

**BPF : Bonne pratique de fabrication**

**BHA : Butylated hydroxyanisol**

**BHT : Butylated hydroxytoluene**

**Bq : Becquerel**

**°C : Degré Celsius**

**<sup>60</sup>Co : cobalt 60**

**CEE : Communauté Économique Européenne**

**CUMAIRA : Comité d'uniformisation des méthodes d'analyses et d'interprétation  
des résultats analytiques**

**D<sub>10</sub> : Dose pour réduire de 90% une population**

**DLC : Date limite de consommation**

**DLUO : Date limite d'utilisation optimale**

**EO: Huile essentielle**

**FDA : Food and Drug Administration**

**kGy: kiloGray**

**kGy/h : kiloGray par heure**

**m : Échantillon acceptable si le résultat est égal ou inférieur à cette valeur**

**M** : Seuil limite d'acceptabilité, aucun échantillon ne doit dépasser cette valeur

**MAP** : emballage sous atmosphère modifiée

**MAPAQ** : Ministère de l'Agriculture, des Pêcherie et de l'Alimentation du Québec

**n°** : Nombre d'échantillons à analyser

**NAM** : Numération des bactéries aérobies mésophiles

**RS** : sensibilité relative

**TIA** : Toxi Infection Alimentaire

**UFC/g** : Unité formant des colonies par Gramme



## Liste des tableaux

**Tableau 1** : Valeurs nutritive du bœuf haché par 100g.....7

**Tableau 2** : Normes relatives pour toutes les préparations de viandes fraîches hachées piquées, attendries, qui ont subi ou non une addition d'ingrédients et qui devront subir une cuisson avant d'être consommées.....13

**Tableau 3** : Modes de conservation et de conditionnement recommandés de la viande fraîche et transformée..... 34

**Tableau 4** : Les huiles essentielles et les composés qui ont été étudiés pour améliorer la méthode de conservation des aliments..... 40

### Article 1 :

**TABLE 1.** Radiation sensitivity of Escherichia coli O157:H7 (EDL 933) in medium fat ground beef packed under air in presence of various active compounds..... 63

**TABLE 2.** Radiation sensitivity of Salmonella Typhi (ATCC 19430) in medium ground beef packed under air in presence of various active compounds..... 64

**TABLE 3.** Radiation sensitivity of Escherichia coli O157:H7 (EDL 933) and Salmonella Typhi (ATCC 19430) in medium ground beef packed under MAP in presence of the most effective compounds..... 65

Article 2 :

**TABLE 1a.** Evaluation of the total mesophilic aerobic bacterial population in medium ground beef stored under air or MAP with or without irradiation treatment at 1.5kGy in presence of antimicrobial compounds (cinnamon EO 0.025%, oregano EO 0.025%, or mustard EO 0.075%), during 28 days..... 97

**TABLE 1b.** Evaluation of the *Escherichia coli* population in medium ground beef stored under air or MAP with or without irradiation treatment at 1.5kGy in presence of antimicrobial compounds (cinnamon EO 0.025%, oregano EO 0.025%, or mustard EO 0.075%), during 28 days..... 98

**TABLE 1c.** Evaluation of the *Salmonella* population in medium ground beef stored under air or MAP with or without irradiation treatment at 1.5kGy in presence of antimicrobial compounds (cinnamon EO 0.025%, oregano EO 0.025%, or mustard EO 0.075%), during 28 days..... 99

**TABLE 1d.** Evaluation of the total coliform population in medium ground beef stored under air or MAP with or without irradiation treatment at 1.5kGy in presence of antimicrobial compounds (cinnamon EO 0.025%, oregano EO 0.025%, or mustard EO 0.075%), during 28 days..... 100

**TABLE 1e.** Evaluation of the lactic acid bacteria (LAB) in medium ground beef stored under air or MAP with or without irradiation treatment at 1.5kGy in presence of antimicrobial compounds (cinnamon EO 0.025%, oregano EO 0.025%, or mustard EO 0.075%), during 28 days..... 101

**TABLE 1f.** Evaluation of the *Pseudomonas* in medium ground beef stored under air or MAP with or without irradiation treatment at 1.5kGy in presence of antimicrobial compounds (cinnamon EO 0.025%, oregano EO 0.025%, or mustard EO 0.075%), during 28 days..... 102

## Liste des figures

- Figure 1** : Cas de Salmonellose pour les deux sexes combinés, de tous âges, en 2004, au Canada..... 17
- Figure 2** : Cas d'infection à *Escherichia coli* O157:H7 pour les deux sexes combinés, de tous âges, en 2004, au Canada..... 19
- Figure 3** : Histogramme des résultats des analyses sensorielles (test hédonique) du bœuf haché mi-maigre en présence de différentes concentrations en huiles essentielles de moutarde, cannelle et origan.....70

## Introduction

Chaque année, la contamination bactérienne des viandes entraîne environ 500 millions de dollars de dépenses en frais de santé, au Canada (Anonyme, 1994). Plusieurs cas d'empoisonnement, dont ceux causés par *Escherichia coli* O157:H7, sont déclarés dans les différentes provinces et de nombreux consommateurs sont touchés.

Depuis quelques années, de très nombreux travaux ont été consacrés à l'influence des traitements ionisants sur la qualité microbiologique des aliments. En 1983, la commission du « Codex Alimentarius » regroupant 125 pays a approuvé l'irradiation de tout aliment jusqu'à une dose de 10 kGy. Cependant, jusqu'à présent, en dépit de l'avis favorable émis en matière de toxicologie par l'O.M.S. en 1980, l'utilisation de ces techniques ne progresse que lentement.

L'application d'une dose de 10 kGy permet de réduire la contamination microbienne, de contrôler la prolifération des bactéries pathogènes, et de prolonger la durée de conservation. En général la dose requise pour éliminer les *Salmonelles* et *Escherichia coli* dans les aliments se situe entre 5 et 7 kGy (O.M.S., 1981). À ces doses, on engendre malheureusement l'apparition de mauvaises saveurs et odeurs (Lacroix *et al.*, 1991), et des changements de couleur et de texture si le procédé est appliqué sans précaution particulières. La présence ou l'absence d'oxygène ainsi que la température d'irradiation sont des paramètres qui permettent de contrôler ces changements.

En présence d'oxygène, on observe des changements de couleur après irradiation. De plus, l'irradiation engendre l'oxydation des acides gras polyinsaturés, impliquant la

formation d'une multitude de substances volatiles telles que les alcools, les aldéhydes et les cétones affectant ainsi l'odeur et la saveur (Merritt *et al.*, 1978). Ainsi, les mauvaises saveurs et odeurs sont dues principalement à la production de composés volatils provenant de la dégradation des acides gras et /ou des acides aminés (Sudarmardji et Urbain, 1972). Ces composés disparaissent toutefois au cours de l'entreposage et de la cuisson (Lacroix *et al.*, 1991).

Il est généralement reconnu que l'irradiation, en présence d'oxygène, accélère l'auto-oxydation des gras. Les réactions peuvent être dues à la formation de radicaux libres qui, en présence d'oxygène, produisent des hydroperoxydes. La peroxydation des lipides, surtout les radicaux issus de l'oxydation des longues chaînes d'acides gras insaturés, cause des dommages variés non seulement pour les organismes vivants mais aussi pour les aliments (Nakatani, 1994). La coupure de ces hydroxyperoxydes libère une variété de produits de décomposition particulièrement les composé carbonyles (Nawar, 1972)

Les épices et les herbes peuvent être substituées aux antioxydants artificiels puisque des extraits de romarin, de thym et de sauge ont été rapportés comme possédant des propriétés antioxydantes comparable ou supérieur à l'hydroxyanisole butylé (BHA) et à l'hydroxytoluène butylé (BHT) (Chan *et al.*, 1997; Wu *et al.*, 1983).

Les propriétés antioxydantes de ces épices sont attribuées aux composés phénoliques et à leur fraction d'huiles essentielles présentes dans ces substances (Deighton *et al.*, 1993). La disponibilité ainsi que l'efficacité éprouvée de ces antioxydants naturels devrait en principe contribuer à promouvoir l'irradiation comme procédé de conservation, de décontamination et d'élimination des germes pathogènes des viandes (Thayer et Boyd, 1992).

Ainsi, l'objectif de notre étude est d'examiner l'effet des combinaisons de traitements avec les huiles essentielles, l'irradiation et un emballage sous atmosphère modifiée du bœuf haché, sur l'efficacité du traitement à éliminer les bactéries pathogènes, la prolifération de la flore totale, et à augmenter sa durée de conservation durant l'entreposage sous réfrigération à 4°C.

## **Chapitre 1**



## **Revue de la littérature**

### **1. Le bœuf**

Selon Statistiques Canada (2000), le Canada compte plus de 103 673 fermes bovines. Selon Agriculture et Agroalimentaire Canada, les fermes productrices de bœuf et de veau en 2001 se chiffraient à plus de 13.7 millions de têtes et ces fermes ont obtenu des recettes atteignant plus de 7.8 milliards de dollars (Agriculture et Agroalimentaire Canada, 2002). En l'an 2000, les fermes bovines canadiennes produisaient 3,36 milliards de livres, et de ce nombre, les Canadiens en consommaient plus de 2,1 milliards de livres (Statistiques Canada, 2000). Les exportations canadiennes de bœuf vont surtout aux États-Unis, et les autres principaux marchés importateurs sont le Japon, la Corée du Sud, le Mexique, la Russie, Taiwan et Hong Kong. En 2002, la consommation moyenne de bœuf par Canadien était de 49,5 livres par an (Canfax: Statistiques Canada, 2003). En 2002, le monde a diminué sa consommation de bœuf en raison de la peur suscitée par la crise de la vache folle, mais les données de statistique Canada de 2004 montrent que les canadiens ont toutefois continué d'en manger.

#### **1.1. La viande hachée**

Les viandes hachées sont des viandes fraîches qui ont été soumises à un traitement de hachage en fragments ou à un passage dans un hachoir à vis sans fin, auxquelles a été éventuellement ajouté un maximum de 1% de sel. Tout ajout d'eau est interdit. Seules peuvent être utilisées pour la fabrication de viandes hachées les viandes provenant d'animaux de boucherie d'une seule des espèces suivantes : bovine, porcine, ovine et caprine.

## 1.2. Le bœuf haché

Le bœuf haché doit être fait de viande de bœuf seulement, plus précisément du muscle strié de la carcasse. Le bœuf haché est composé de viande de bœuf, de vache et de taureau, bref de bovidés des deux sexes de n'importe quel âge. Tous les morceaux de viande qui ne peuvent plus être utilisés à d'autres fins sont utilisés dans sa composition. La Loi canadienne sur les aliments et drogues indique également que le bœuf haché ordinaire doit contenir moins de 30 % de gras, le bœuf haché mi-maigre moins de 23 % de gras, le bœuf haché maigre moins de 17% de gras et le bœuf haché extra maigre moins de 10 % de gras (Normes des produits de la viande). En plus d'avoir une activité de l'eau élevée ( $A_w = 0.99$ ) et un pH proche de la neutralité (6.5 et 7.0), la viande est un milieu très nutritif avec des caractéristiques qui conviennent à la croissance microbienne (Silliker *et al.*, 1980).

**Tableau 1: Valeurs nutritive du bœuf haché /100g**

Nutriments	Types de viande							
	Ordinaire		Mi maigre		Maigre		Extra maigre	
Calories	300		250		210		180	
Lipide	25g	38%	19g	29%	15g	22%	10g	25%
Saturé	10g	55%	7g	37%	6g	34%	4g	20%
Trans	0.5g		1g		0.5g		0.3g	
Cholestérol	65mg		60mg		60mg		55mg	
Sodium	60mg	2%	60mg	2%	65mg	3%	65mg	3%
Glucides	0%		0%		0%		0%	
Fibre	0%		0%		0%		0%	
Sucre	0%		0%		0%		0%	
Protéine	17g		19g		20g		21g	
Vitamine A	0g		0g		0g		0g	
Vitamine C	0g		0g		0g		0g	
Calcium	0g		0g		0g		0g	
Fer	15%		15%		10%		10%	

Tiré de : Centre d'information sur le bœuf, septembre 2005

## 2. Qualité nutritionnelle du bœuf haché

Le muscle du bœuf est constitué de 75% d'eau, de 18% de protéines, de 3% de lipides, d'environ 1% de sucres et de 3% de minéraux et vitamines (sodium, potassium, fer, zinc, thiamine, riboflavine, niacine, vitamines B6 et B12) (tableau 1) (Centre d'information sur le bœuf, 2005)

Santé Canada a publié en janvier 2003 de nouveaux règlements qui rendent obligatoire l'étiquetage nutritionnel de la plupart des aliments emballés, dont les viandes et les volailles hachées. Ces règlements sont obligatoires depuis le 12 décembre 2005. Leur étiquette détaillée donne aux consommateurs de l'information sur la manipulation, l'entreposage, la préparation et la cuisson.

## 3. Aspect économique

La chair des animaux constitue depuis toujours l'une des bases de l'alimentation humaine. L'industrie de la viande et des produits carnés représente l'un des principaux secteurs de l'industrie alimentaire. La viande est consommée de plus en plus, et sous de formes diverses.

En 2003, la consommation du bœuf dans le monde a diminué en raison des craintes suscitées par la crise de la vache folle. Toutefois la consommation canadienne par habitant aurait augmenté. En 2003, la consommation canadienne par habitant était de 14.2 kg de bœuf représentant ainsi une hausse de 5% par rapport à l'année précédente, où le niveau de consommation annuel était de 13.5kg (Statistique Canada, 2004).

Cette demande croissante place l'industrie des viandes au Canada à la quatrième en importance au Canada. Au niveau alimentaire, c'est l'industrie la plus importante avec un

chiffre d'affaires de 9.2 milliard de dollars. Cependant, la nature périssable de cette denrée alimentaire, et la distribution sur de longues distances, nationale ou internationale, engendre des pertes annuelles dues à son altération atteignant à ce jour plus de 200 millions de dollars par an. De plus, la viande est une source importante de toxi-infections alimentaires, cette denrée étant sujette à la présence et à la dispersion des pathogènes.

Le bœuf haché représente actuellement la forme la plus populaire de bœuf frais au Canada. Il compte pour environ 50 % du volume des ventes en kiloGrammes et 30 % de la valeur des ventes au détail.

En 1996, les exportations canadiennes de bovins représentaient 2,1 milliards de dollars, ce qui en faisait le deuxième produit agricole d'exportation après le blé (4,7 milliards \$) (Statistique Canada, 2004). Bien que 72% des fermes d'élevage se trouvent dans l'ouest du pays, l'est du Canada demeure un important producteur de viande et représente la majeure partie du marché canadien des bovins. On compte davantage de bovins de boucherie que de bovins laitiers dans chaque province, à l'exception du Québec et de Terre Neuve et Labrador. L'industrie des abattoirs a subi une grande transformation dans les années 1990. De nos jours, les abattoirs et les usines de transformation représentent 70 à 75% du total de l'industrie au Canada, alors qu'en 1992, ils ne comptaient que pour 53% (L'Atlas du Canada, 1996).

#### 4. Microbiologie du bœuf haché

##### 4.1. Flore microbienne

Dans le bœuf adulte, les tissus qui sont destinés à être transformés en viande et autres produits carnés sont stériles (Ouattara, 1998). L'aponévrose conjonctive, sorte d'enveloppe

recouvrant les muscles des carcasses, est une première barrière que traversent très difficilement les microorganismes. C'est au cours des différentes étapes de transformation (opérations d'éviscération, de désossage découpage, de parage et de tranchage) que la contamination survient.

#### 4.2. Mode de contamination

Les sources de contamination de la viande sont diverses et d'inégale importance. La plus grande est constituée par l'animal vivant porteur de nombreux microorganismes sur son cuir ou sur la couenne et dans son tractus digestif (contamination primaire ou endogène). Certaines d'entre elles sont des bactéries psychrotrophes capables d'altérer la viande par putréfaction avec ou sans modification de la couleur (*Pseudomonas*, certaines bactéries de la famille des entérobactéries) ou par formation d'acides gras volatils à odeurs désagréables, produits par exemple par *Brochothrix thermosphacta*, une bactérie d'altération de la viande. De plus les animaux peuvent être porteurs sains de bactéries pathogènes comme *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, etc.

L'une des principales sources de contamination des muscles de la viande provient de l'abattoir par une contamination lors des délicates séparations des viscères qui sont fortement contaminés, et les morceaux de viande. Les procédures de découpe et de désinfection des instruments pour éviter cette contamination sont très strictes mais la contamination si elle est faible, reste quasi systématique. L'intestin est aussi un foyer important de contamination bactérienne; les bactéries franchissent la barrière intestinale au cours du découpage (Bourgeois et Leveau, 1990) et peuvent être à l'origine de contaminations profondes. La surface de la carcasse, quant à elle, porte toujours un nombre

important de germes divers. Ce nombre varie avec l'emplacement sur l'animal et les conditions d'hygiène à l'abattoir. Les germes et les familles bactériennes dominant les viandes fraîches sont *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Micrococcaceae*, *Enterobacteries*, *Flavobacterium*, *microbacterium*, *Lactobacillus*.

La contamination secondaire ou exogène, est causée par des microorganismes qui sont étranger à l'animal. C'est au cours des différentes manipulations (abattoir, coupe, transport) que les microorganismes qui contaminent les accessoires sont transférés sur la viande. Les murs, les sols des réfrigérateurs, les plateaux de découpe dans les salles de désossement sont des sources de contamination de la viande (Stringer et al. 1969, Newton et al. 1978). Les contaminations avec les moyens actuels peuvent être limitées mais pas complètement prohibées, en effectuant les manipulations de la viande avec une température ambiante entre 1.5 et 5°C. Il a été montré que si toutes les opérations faites lors de la production du bœuf haché étaient réalisées à une température qui ne dépasse pas -1.7°C, la durée de conservation pourrait être augmentée significativement (Emswiler *et al.* 1976). Sous de bonnes conditions d'hygiène le nombre moyen de bactéries est de moins de  $10^3$  UFC/cm<sup>2</sup> avec une flore constituée de moins de 5% d'organismes responsables de la putréfaction de la viande. Pour le bœuf haché, il est plus difficile d'obtenir des taux de contamination du même ordre de grandeur car celui-ci est beaucoup plus manipulé que les autres types de coupe comme le filet mignon, ou la surlonge. Le bœuf haché est réduit en morceaux grâce à un hachoir qui se compose de nombreuses lames qui sont des sources importantes de contamination potentielle. Le nombre d'étapes et de manipulateurs sont également des sources potentielles de contamination, ce qui augmente de plus de la moitié ( $10^6$ -

$10^7$ UFC/g), le nombre de bactéries échantillonnées dans le bœuf haché par rapport aux autres morceaux de bœuf (Gill et Greer, 1993).

#### 4.3 Normes microbiennes en vigueur

Les normes microbiologiques ont été mises en place en 1995 par CUMAIRA. Elles ont été créées grâce à la collaboration du MAPAQ (Ministère Agriculture Pêcherie et Alimentation Québec) suite à une évaluation et à une comparaison des données retenues par des organismes nationaux et internationaux (*Codex Alimentarius*, ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods), FDA (Food and Drug Administration), CEE (Communauté Économique Européenne), Gouvernement fédéral (Santé Canada et Agence canadienne d'inspection des aliments), etc. Les données recueillies lors des nombreuses enquêtes réalisées par le MAPAQ et les municipalités sous entente, ainsi que l'expérience découlant de l'utilisation des critères microbiologiques actuels, ont aussi été considérées pour la révision et l'établissement de critères adéquats et réalistes. Le tableau 2 représente les normes microbiennes qui ont été mises en place pour la préparation du bœuf haché.



**Tableau 2: Normes relatives pour toutes les préparations de viandes fraîches hachées, piquées, attendries, qui ont subi ou non une addition d'ingrédients et qui devront subir une cuisson avant d'être consommées**

Paramètre	Signification	Plan d'interprétation des critères			
		n	c	m	M
NAM	BPF	5	3	$5.0 \times 10^7$	$5.0 \times 10^8$
<i>E. coli</i>	BPF	5	2	$1.0 \times 10^2$	$1.0 \times 10^2$

Tiré du CUMAIRA, 2003

- BPF : Bonne Pratique de Fabrication
- NAM : Numération des bactéries aérobies mésophiles
- n : Nombre d'échantillons à analyser
- c : Nombre maximal d'échantillons pouvant présenter des valeurs se situant entre n et M
- m : Échantillon acceptable si le résultat est égal ou inférieur à cette valeur
- M : Seuil limite d'acceptabilité, aucun échantillon ne doit dépasser cette valeur
- n = 5 est retenu à titre d'application générale, mais ne représente pas la règle (n = 1, 2, 3, 4, 5 etc. ou selon la situation à évaluer).

Le nombre n d'échantillons à analyser doit être déterminé dans le cadre du plan d'échantillonnage. Il doit être établi en fonction de l'objectif à évaluer : contrôle de qualité régulier, programme de surveillance, recherche de microorganismes pathogènes en fonction de l'évaluation de risque, contrôle

réglementaire, etc. Ainsi, le nombre d'échantillons requis n'est pas toujours de cinq (CUMAIRA mars 2003).

## 5. Les infections alimentaires

Des bactéries, des virus et des parasites contaminent nos aliments et peuvent nous rendre malade sans même que l'on s'en aperçoive. Ces maladies présentent souvent des symptômes semblables à ceux de la grippe (crampes d'estomac, nausée, vomissement, diarrhée, fièvre). Chez les jeunes enfants, les personnes âgées, les femmes enceintes et les personnes dont le système immunitaire est affaibli, les toxi-infections alimentaires peuvent s'avérer très dangereuses. Parmi les toxi-infections alimentaires signalées au MAPAQ en 2005-2006, 49,2 % sont survenues à la suite de la consommation d'aliments dans des restaurants, 45,8 % à domicile, 2,5 % dans des institutions et 2,5 % dans les autres catégories d'établissements. Comme par les années passées, le groupe alimentaire « Viandes et volailles » a été le plus souvent incriminé dans les déclarations de Toxi-Infection Alimentaire (TIA) (35,2 %). Globalement, les aliments concernés par les 890 déclarations proviennent principalement des restaurants (54,6 %) et des détaillants (36,4 %). Les agents pathogènes les plus souvent signalés, en 2005-2006, ont été les salmonelles, *E. coli* O157:H7, *Campylobacter* et le virus de l'hépatite A. En tout, 27,9 % des déclarations de toxi-infections alimentaires ont été confirmées par un diagnostic médical, un isolement de l'agent causal dans les aliments ou une enquête épidémiologique, alors que, dans 21,5 % des cas aucun lien n'a été établi avec l'alimentation. Globalement, 92,6 % des toxi-infections alimentaires confirmées ou probables ont une origine microbiologique. Plus de

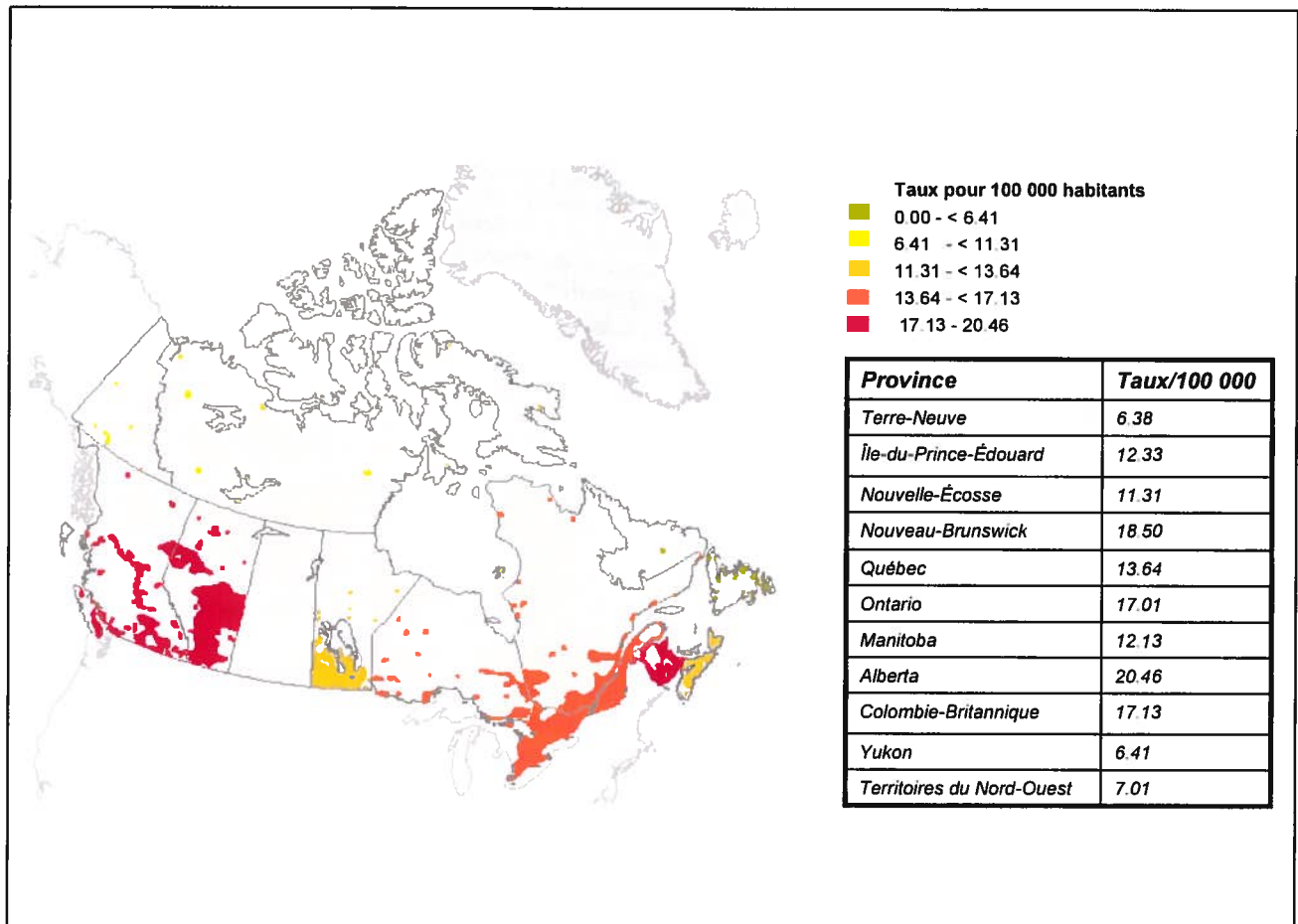
2 486 personnes ont été signalées au MAPAQ comme présentant des symptômes de gastroentérite liés à la consommation d'aliments et 54,5 % des signalements reçus provenaient directement de consommateurs. Dans 34,5 % des 828 épisodes de toxi-infections alimentaires signalés, les personnes malades avaient eu une consultation médicale (Centre québécois d'inspection des aliments et de santé animale, 2006)

### 5.1 *Salmonella* Typhi (*S. Typhi*)

La Salmonelle est une bactérie naturellement présente dans l'intestin des animaux, en particulier chez les volailles et les porcs. Elle vit également dans l'environnement. Les personnes qui consomment des aliments contaminés par la Salmonelle sont susceptibles de contracter la salmonellose. Cette bactérie est classée comme un bacille à Gram négatif de la famille des Entérobactéries; mobile, avec aérobie et anaérobie facultative; elle possède des antigènes somatiques, flagellaires et Vi. Elle est infectieuse si la concentration ingérée est  $\geq 10^5$  UFC/g. Elle peut être transmise de différentes façons : d'une personne à l'autre, par les aliments, tel que l'eau, les fruits, les légumes, la viande, les poissons et par contamination croisée via les mains des manipulateurs. Les aliments aussi peuvent être infectés par les mouches et servir de milieu de culture à l'organisme qui s'y multiplie et atteint une dose infectieuse.

Aussi, la Salmonelle peut contaminer les aliments à différents stades : au cours de l'abattage d'un animal et de la transformation de sa viande, lorsqu'ils sont manipulés par une personne infectée ou lorsque des pratiques insalubres de manipulation des aliments entraînent de la contamination croisée.

Quels sont les symptômes de la salmonellose ? Comme dans la majorité des cas de toxi-infections alimentaires, les symptômes de la salmonellose ressemblent à ceux de la grippe. Ils apparaissent dans les 12 à 72 heures suivant l'ingestion de l'aliment contaminé et durent jusqu'à sept jours. Certaines personnes infectées pourraient ressentir des symptômes chroniques, comme l'arthrite réactionnelle, trois ou quatre semaines plus tard. D'autres pourraient ne pas avoir de symptômes ni tomber malade, mais être porteurs de la bactérie et propager l'infection.



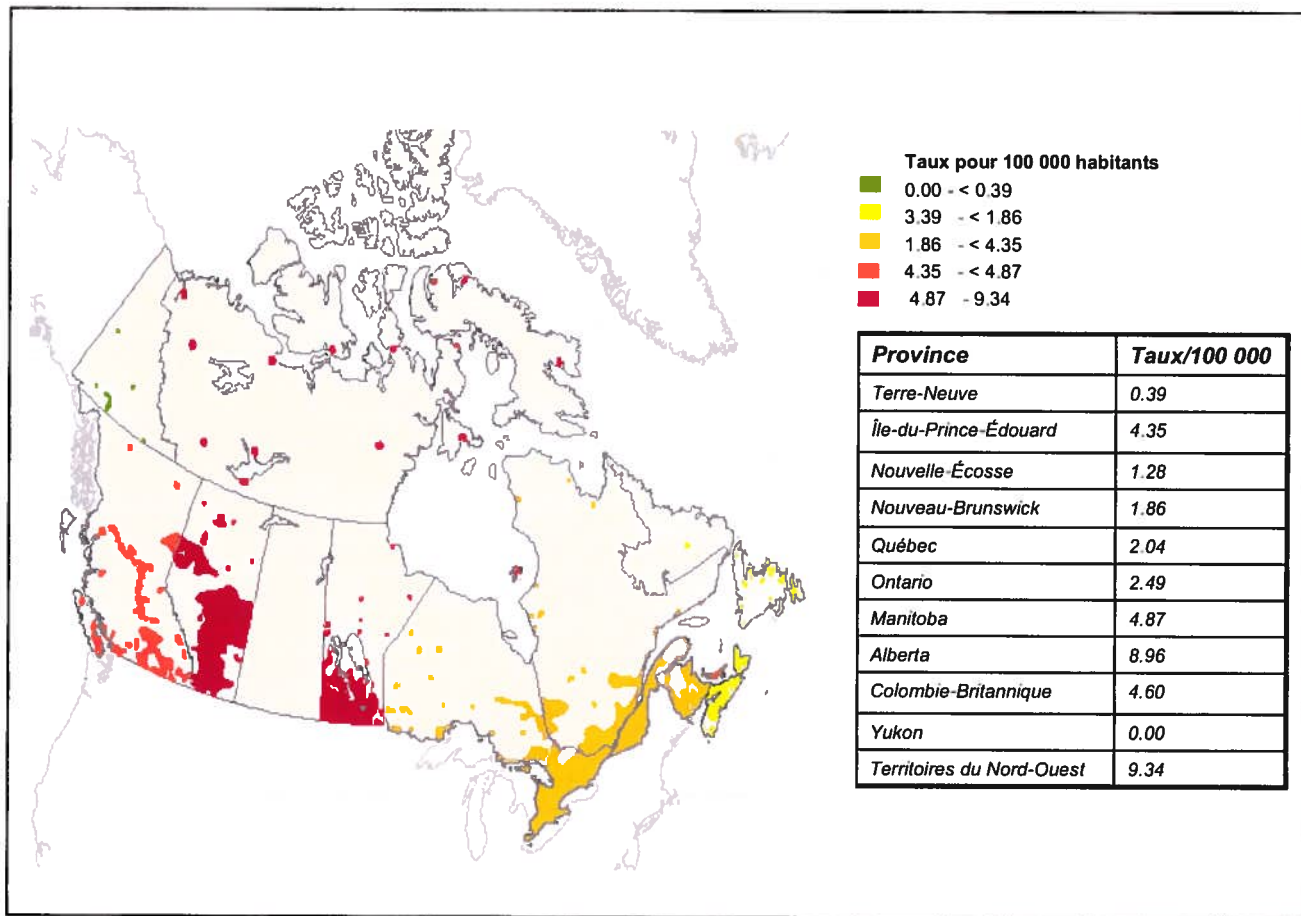
**Figure 1** : Cas de Salmonellose pour les deux sexes combinés, de tous âges, en 2004, au Canada (Tiré de l'agence de santé publique du Canada 2006)

## 5.2 *Escherichia coli* O157: H7 (*E. coli*)

*Escherichia coli* O157:H7 est aussi une bactérie naturellement présente dans les intestins du bétail, de la volaille et d'autres animaux. Les personnes infectées par cette bactérie peuvent devenir gravement malades. Plusieurs autres types d'*E. coli* peuvent également infecter les personnes et entraîner des maladies. *E. coli* est un bacille à Gram négatif de la famille des Entérobactérie; mobile, aérobique, qui produit deux types de toxines (vérotoxine, toxine de *shiga*). Le code O157:H7 correspond à l'identification de phénotypes particuliers de protéines de surface de la bactérie. Ainsi le « O » correspond à l'antigène somatique et le « H » correspond à l'antigène flagellaire.

*E. coli* O157:H7 est infectieuse à faible concentration. En effet, l'ingestion d'une seule bactérie peut engendrer une infection. Elle peut être transmise de différentes façons : d'une personne à l'autre (très élevée), par les aliments contaminés (viande hachée pas assez cuite, lait non pasteurisé), transmission par voie fécale ou orale. Il arrive quelquefois que la bactérie *E. coli* contamine la surface de la viande au moment de l'abattage et ce, malgré toutes les précautions qui peuvent être prises. Lorsque la viande est hachée, le traitement peut recontaminer la viande.

Les symptômes d'une infection à *E. coli* se manifestent en quelques heures et peuvent durer jusqu'à dix jours après l'ingestion de la bactérie. Ils se caractérisent par de fortes crampes abdominales. Certaines personnes peuvent avoir du sang dans leurs selles (colite hémorragique). D'autres personnes infectées pourraient ne pas avoir de symptômes ni tomber malade, mais être porteurs de la bactérie et propager l'infection à d'autres.



**Figure 2 :** Cas d'infection à *Escherichia coli* O157:H7 pour les deux sexes combinés, de tous âges, en 2004, au Canada (Tiré de l'agence de santé publique du Canada 2004)

### 5.3 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

*S. aureus* est une bactérie répandue dans le monde entier; elle est présente particulièrement dans les endroits où il y a un manque d'hygiène et se retrouve dans les hôpitaux où se développent des souches résistantes aux antibiotiques. C'est un cocci à Gram positif, le plus souvent disposé en grappes; non sporulé, immobile, ayant la caractéristique d'être coagulase-positif. De nombreuses souches de *S. aureus* sont productrices d'exotoxines dont les entérotoxines staphylococciques A à E, la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1) et les toxines exfoliatives A et B. Ce sont les entérotoxines thermorésistantes qui causent les intoxications (Agence de Santé Publique du Canada, 2001). La dose infectieuse de *S. aureus* varie énormément. *S. aureus* est une bactérie pathogène opportuniste de la flore normale. Elle engendre divers syndromes qui se présentent sous une forme clinique différente dans la collectivité en général, chez les nouveau-nés, chez les femmes menstruées et chez les malades hospitalisés. L'intoxication alimentaire se caractérise par une survenue subite/brutale des nausées sévères, des crampes, des vomissements et une diarrhée qui durent habituellement 1-2 jours. Sa période d'incubation est variable et indéterminée, habituellement 4-10 jours. Plusieurs mois peuvent s'écouler entre la colonisation et l'apparition de la maladie. Le temps écoulé entre l'ingestion des aliments et l'apparition des symptômes est habituellement de 2 à 4 heures.

## 6. Durée de conservation de la viande fraîche

Les viandes fraîches sont celles que l'on découpe, désosse ou simplement, que l'on broie pour obtenir des steaks, côtes, rôtis et autres variétés ou des viandes hachées. Autrefois, alors que la réfrigération n'existait pas, les viandes étaient conservées en les



salant à l'excès ou en les faisant sécher, ou bien les deux. La viande fraîche s'abîme très vite. Sa durée de conservation dépend des conditions d'élevage de l'animal, de l'hygiène observée à l'abattage et du mode de stockage. Pour une viande de bœuf haché frais sa durée de conservation est estimée à deux jours, si elle est conservée dans un réfrigérateur conventionnel et sous une atmosphère aérobie. En 1998, le périssage des viandes au Canada a occasionné des pertes de l'ordre de 200 millions de dollars aux détaillants (Millette, 2003).

La durée de conservation de la viande est influencée par plusieurs facteurs. Le principal facteur est la présence microbienne retrouvée sur les morceaux de viande initiale. Plus cette concentration microbienne sera importante, plus la durée de conservation sera courte (Robert *et al.* 1998).

## 7. Modes de conservation

Il existe plusieurs méthodes permettant une bonne conservation des aliments. Chaque méthode possède cependant son intérêt et sa spécificité propre :

### 7.1 Appertisation

Cette méthode inventée par le Français Nicolas Appert au 19<sup>e</sup> siècle, consiste à détruire par la chaleur (entre 120 et 130°C) les formes végétales et sporulées des micro-organismes. Elle se déroule en deux opérations successives, conditionnement du produit dans un récipient étanche à l'eau, aux gaz et aux micro-organismes et l'action de la chaleur qui détruit les bactéries et autres micro-organismes tout en protégeant le contenu vitaminique.

## 7.2 L'atmosphère modifiée

La conservation sous atmosphère modifiée a pour but de remplacer l'air par des gaz, principalement l'azote et le dioxyde de carbone. Le CO<sub>2</sub> agit sur le produit et sur les germes. L'avantage est que le produit se conserve plus longtemps par inhibition de la croissance microbienne, inactivation des enzymes, et absence d'oxydation des lipides. Presque tous les aliments doivent être conservés au frais, et sous emballage imperméable aux gaz, mais le délai de conservation peut atteindre plusieurs semaines. L'emballage sous atmosphère modifiée inhibe les bactéries aérobies en raison de l'absence d'oxygène, et aussi de l'effet bactériostatique du CO<sub>2</sub>. Cela réduit les pertes d'aliments causées par *Pseudomonas* spp. et favorise la croissance des bactéries lactiques. Cependant, si cette forme d'emballage parvient très bien à stopper la flore bactérienne aérobie nuisible, les bactéries anaérobies ou microaérophiles ne sont pas inhibées : *Clostridium* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*.

Il a été observé que les odeurs atypiques formées dans les viandes emballées avant l'irradiation se dissipaient rapidement après exposition à l'atmosphère pendant quelques minutes. Selon Rhodes, 1996, une différenciation entre les échantillons irradiés à 6 kGy et les produits contrôlés peut se faire, mais il n'y a aucune différence importante dans leur préférence tel qu'évaluée sur une échelle de 1 (extrêmement désagréable) à 9 (extrêmement agréable). Les échantillons irradiés à 6 et à 8 kGy ont été cotés comme étant moins acceptables que les contrôles (Rhodes *et al.*, 1966). L'augmentation de la dose d'irradiation a semblé diminuer l'acceptabilité de l'odeur du bœuf haché cru, particulièrement après un certain temps. Cependant, l'odeur disparaît pratiquement au moment de la cuisson et au cours de l'entreposage (Lefebvre *et al.* 1994).

### 7.3 La congélation

Cette méthode, inventée par le Français Charles Tellier au 19<sup>ème</sup> siècle, consiste à diminuer l'activité de l'eau en la transformant en molécules de glace.

La congélation est un procédé de conservation qui fait intervenir successivement trois phases distinctes : la congélation proprement dite, le stockage du produit congelé et la décongélation. Chaque de ces phases pose un problème spécifique tant au plan de la conduite des procédés qu'au plan de la modification des qualités physiques et chimiques des produits. La congélation ne préserve pas des germes pathogènes car ceux-ci ne sont qu'en état d'hibernation (Rosset, 1990). La microflore mésophile initiale de la viande se situe entre  $10^2$  et  $10^3$  UFC/cm<sup>2</sup> et provient de la contamination initiale (Borch *et al.*, 1996). Seulement 10% des bactéries peuvent croître à des températures de congélation. Les travaux de Borch *et al.*, (1996) ont démontré que la durée de conservation du bœuf est de 5 à 6 jours, soit la période nécessaire pour attendre  $10^7$  UFC/cm<sup>2</sup>. Une conservation prolongée conduit à la croissance lente des bactéries qui produisent des acides lactiques et des entérobactéries et même à une croissance rapide des *Pseudomonas* sp., un genre chimiohétérotrophe, capable de dégrader les sucres par oxydation en produisant du CO<sub>2</sub> (Prescott *et al.* 1995).

## 8. Facteurs prolongeant la durée de conservation

### 8.5 La cuisson

La cuisson de la viande peut augmenter la durée de conservation du produit. Cela est probablement dû à l'inactivation des enzymes et la destruction d'un nombre important de

microorganismes. La plupart des réactions conduisant au rancissement étant des oxydations, l'addition d'antioxydants peut améliorer les durées de conservation. Beaucoup d'herbes et d'épices contiennent des substances aidant au contrôle du rancissement des produits carnés.

## 8.2 Le fumage

Les viandes fumées bénéficient de durées de conservation plus longues. Ceci est dû en partie aux propriétés antioxydantes de la fumée et en partie au fait que la fumée masque les saveurs indésirables. Le fumage, ou fumaison, est par définition l'opération qui consiste principalement à soumettre une denrée alimentaire à l'action des composés gazeux qui se dégagent lors de la combustion de certains végétaux. À l'origine, le but recherché était d'agir sur la durée de conservation du produit traité: c'est ainsi qu'à côté de la salaison et du séchage, le fumage appartient au groupe des trois procédés les plus anciens de conservation des denrées alimentaires. Par la suite, la recherche principalement d'une qualité gustative, et accessoirement, celle d'un mode de présentation du produit ont prévalu.

Il joue donc plusieurs rôles : aromatisation et coloration du produit, préservation du produit (effet antimicrobien), durcissement de la texture (p.ex. modification des constituants protéiques du boyau par les composants présents dans la fumée). La fumaison peut se faire à froid (12-25°C), à chaud (50-85°C : dénaturation des protéines et une destruction des micro-organismes) ou à une température intermédiaire (25-50°C : activation des enzymes endogènes améliorant la tendreté du produit).

### 8.3 L'irradiation

L'irradiation a pour but d'éliminer les bactéries pathogènes et de réduire le nombre de bactéries d'altération dans la viande, afin de rendre l'aliment plus sûr à la consommation par les humains. Le traitement peut être réalisé sur la viande fraîche à 4°C ou sur de la viande congelée (-10 à -80°C).

Le traitement d'irradiation vise à contrôler les pathogènes microbiens tels que *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia* spp., etc. Le traitement réduit aussi le nombre des formes végétatives de *Bacillus cereus* et *Clostridium perfringens*, inactive tous les insectes, avec l'avantage de prolonger en même temps la durée de conservation de la viande refroidie et réfrigérée, retardant ainsi l'apparition d'une altération perceptible et identifiable en réduisant le niveau de micro-organismes communs, non pathogènes responsables de la détérioration de la viande.

L'irradiation peut engendrer l'apparition de mauvaises odeurs et de saveurs. Le rapport entre la production d'odeurs et la dose est linéaire jusqu'à 140 kGy. L'odeur est le résultat de la production de plus de 100 composés volatiles, dont les composants principaux sont les hydrocarbures aliphatiques générés par la décomposition des matières grasses à l'oxydation des acides aminés soufrés présents dans la viande. Les composés dérivés des protéines comme les composés sulfurés et les hydrocarbures aromatiques constituent moins de 1 % du total, et les composés oxygénés sont également relativement moins abondants (Merritt *et al.*, 1978). L'usage de température de refroidissement ou de congélation au cours du processus d'irradiation peut diminuer de beaucoup le développement de l'odeur atypique de l'irradiation (Urbain, *et al.*, 1985). Toutefois en appliquant les doses réglementaires de

Santé Canada, il n'y a pas de mauvaise odeur et saveur. La dose réglementaire absorbée permise est d'au moins 1,5 kGy au plus 4,5 kGy pour le bœuf haché frais et les doses sont d'au moins 2,0 kGy au plus 7,0 kGy pour le bœuf haché congelé (La gazette du Canada, 2002).

#### **Définition de la technologie :**

Cette technique a été appliquée pour le traitement des aliments la première fois au cours de la seconde guerre mondiale.

Le but de l'irradiation du bœuf haché est de contrôler les organismes pathogènes, réduire la charge microbienne et prolonger la durée de conservation. L'irradiation peut se faire avec du Cobalt 60, du Césium 137, des rayons X provenant d'un appareil radiogène (au plus 5 MeV) ou à accélérateurs d'électrons provenant d'un appareil radiogène (au plus 5 MeV).

Le rayonnement est une énergie qui se déplace dans l'espace, tout comme la lumière et la chaleur du soleil. La source de rayonnement la plus utilisée pour l'irradiation des aliments est le cobalt-60; celui-ci produit des rayonnements électromagnétiques qui possèdent une énergie beaucoup plus élevée que celle de la lumière. L'irradiation ne dure que durant le temps d'exposition aux rayons mais ne rend pas les produits radioactifs. Les rayons agissent au niveau de l'ADN des parasites et des micro-organismes en provoquant des gonflements et des brisures le long de la chaîne. L'ADN est tellement endommagé que les molécules ne peuvent être réparées se qui provoque une impossibilité de reproduction des organismes touchés et la mort (Cabana, 1996).

Les accélérateurs d'électrons sont aussi d'autres sources de rayonnement utilisées pour le traitement de la viande. Les électrons ayant une masse, ils pénètrent toutefois moins

bien dans la matière et agissent sur des petites surfaces. Les rayonnements produits par le cobalt-60 sont des rayonnements électromagnétiques n'ayant ni masse ni charge. Ils pénètrent jusqu'à 3 pieds de ciment

Grâce aux rayons ionisants produit par les irradiateurs, cette technologie est utilisée sur des aliments conditionnés et déjà emballés afin de diminuer le nombre de bactéries, d'améliorer la salubrité de l'aliment, d'augmenter sa durée de vie, et d'éliminer les insectes qu'ils peuvent contenir (La gazette du Canada, 2002). L'avantage de l'irradiation par rapport aux autres méthodes traditionnelles est que les rayons pénètrent directement au cœur de l'aliment, contrairement aux pesticides et aux gaz qui eux agissent en surface. Le traitement s'effectue à froid, se qui permet de conserver les valeurs nutritives et les propriétés physico-chimiques des aliments. Avec une telle méthode, l'utilisation des additifs alimentaires tels les nitrites et les nitrates peut être diminuée voire éliminée. Le *Food and Drug Administration* des États-Unis a décidé d'utiliser l'irradiation plutôt que la fumigation pour le traitement des épices et des fruits et des légumes.

En comparaison avec des méthodes classiques de traitement et de conservation des aliments, les techniques d'irradiation suscitent un intérêt grandissant dans le monde. Les autorités compétentes de plus de 37 pays ont autorisé l'irradiation d'une quarantaine de denrées différentes, telles que les épices, les céréales, la viande de volaille séparée mécaniquement, les fruits et les légumes. Vingt-quatre de ces pays exploitent actuellement ce procédé à des fins commerciales (Nordion international Inc., 1990).

Chaque année, près d'un demi-million de tonnes de produits et ingrédients alimentaires sont irradiés dans le monde. Cette quantité est minime par rapport au volume total de denrées alimentaires traitées. De plus, les produits irradiés ne font guère l'objet

d'échanges internationaux. Pour que l'irradiation des aliments se développe, il faut notamment faire en sorte que le public sache en quoi consiste ce procédé et l'accepte. Cela s'est révélé difficile jusqu'à maintenant en raison des malentendus et des craintes que suscitent souvent les techniques associées au nucléaire et l'utilisation des rayonnements ionisants.

Au Canada, l'irradiation est autorisée pour les pommes de terre depuis les années 60, les oignons, le blé, la farine, la farine de blé entier, les épices entières ou moulues et les assaisonnements déshydratés pour plusieurs raisons :

- Inhiber la germination des pommes de terre, de l'oignon et de l'ail,
- Prévenir l'infestation par des insectes de la farine,
- Réduire la charge microbienne des épices et des assaisonnements.

(La gazette du Canada, 2002).

Ces rayonnements sont dits ionisants car ils possèdent une énergie suffisante pour arracher des électrons aux atomes et aux molécules qui sont alors transformés en particules chargées électriquement, appelées ions.

Les rayons gamma et les rayons-X, de même que les ondes radio, les micro-ondes, les rayons ultraviolets et le rayonnement visible, sont des rayonnements électromagnétiques se situant sur la partie du spectre caractérisée par de courtes longueurs d'onde et de hautes énergies. Leurs effets sur les matières sont similaires et ils se différencient principalement par leur origine. Les rayons-X dont l'énergie est variable, sont émis par des machines; les rayons gamma, dont l'énergie est spécifique, résultent de la désintégration spontanée de radio nucléides, provenant du cobalt-60. Celui-ci se transforme ainsi en nickel au bout de 10 ans. Le cobalt-60 perd aussi 10% de son énergie par an. La demi-vie est de 5 ans.



Les radionucléides naturels et artificiels, appelés encore isotopes radioactifs ou radio-isotopes, sont instables et leurs désintégrations spontanées, appelées également décroissance, s'accompagnent de l'émission de rayonnements tant qu'ils n'ont pas atteint un état stable. Le temps à la fin duquel la moitié des noyaux se sont désintégrés est appelé demi-vie ou période radioactive et diffère pour chaque radioélément. Le becquerel (Bq) est l'unité de radioactivité correspondant à une désintégration par seconde.

Seules certaines sources de rayonnement peuvent être utilisées pour l'irradiation des aliments. Ce sont le cobalt-60, le césium 137, les générateurs d'électrons, les rayons X ayant une énergie maximale de cinq millions d'électronvolts (MeV) et les accélérateurs d'électrons ayant une énergie maximale de 10 MeV. Les énergies de ces sources de rayonnement sont trop faibles pour rendre radioactive quelque matière que se soit, y compris les aliments.

Le cobalt-60 est le radio nucléotide de loin le plus utilisé comme source de rayon gamma pour l'irradiation des aliments. Il est produit par bombardement neutronique de cobalt-59 métallique dans un réacteur nucléaire, puis est placé dans des "crayons" consistant en une double enveloppe scellée en acier inoxydable pour prévenir tout risque de fuite lors de son utilisation dans l'installation d'irradiation. Le cobalt-60 a une demi-vie de 5.3 ans. Le césium 137 est le seule autre radio nucléotide émetteur gamma qui convienne pour le traitement industriel. Il s'obtient par le retraitement des éléments combustibles épuisés et a une demi-vie de 30 ans. Le césium est un sel alors que le cobalt est un métal.

Tel que décrit plus haut, l'irradiation ne dure que le temps de l'exposition aux rayons ionisants, ceux-ci ayant l'avantage de pénétrer les aliments détruisant donc les micro-organismes à l'intérieur de l'aliment autant que ceux à la surface. Les rayons ionisants

agissent au niveau des molécules d'acide désoxyribonucléique (ADN) des micro-organismes en provoquant des gonflements et des brisures le long de la chaîne des nucléotides. Toute altération de l'ADN engendre le mauvais fonctionnement de la reproduction protéique et voir même son arrêt. Un arrêt de la synthèse des protéines signifie arrêt de la reproduction et l'organisme est donc contraint à la mort (Lacroix *et al.*, 1992). Selon l'équipe de Clavero *et al.* (1994), une dose d'irradiation de 2.5 kGy est suffisante pour éliminer une population de  $10^8$  UFC/g de bœuf d'E. coli O157:H7, de  $10^3$  *Salmonella* et de  $10^{10}$  *Campylobacter jejuni*.

Le premier objectif de l'irradiation de la viande est de contrôler la prolifération des agents pathogènes. Selon Roberts *et al.* (1998), le temps de délai du déclenchement de la détérioration microbienne identifiable pour la viande fraîche et la viande pré-congelée dégelée est un avantage et qui va de pair avec la radiopasteurisation. Cette équipe a montré qu'en irradiant de la viande de bœuf congelée à 7kGy ils obtenaient une durée de conservation de 42 jours lorsque entreposée à 4°C. Le temps de conservation a été augmenté de 6 fois par rapport au contrôle sans irradiation qui lui ne pouvait se conserver à peine 7 jours. Les conclusions auxquelles divers chercheurs sont arrivés indiquent que les micro-organismes sont généralement plus sensibles à l'irradiation dans le bœuf haché à teneur élevée en gras et soutiennent moins la croissance des micro-organismes qui survivent que dans le bœuf haché à faible teneur en gras. Des études indiquent que la détérioration a été retardée de plus d'une semaine à des doses d'environ 1 kGy et est demeurée faible après 21 jours. Une réduction de la détérioration a aussi été démontrée dans le porc et l'agneau (Roberts et Weese, 1998). L'équipe d'Andrews *et al.* (1998) propose l'irradiation comme méthode

alternative pour lutter contre les insectes présents dans les graines de blé et de riz et également pour les épices (Andrews *et al.*, 1998).

Les effets de l'irradiation sur la valeur nutritive du bœuf doivent toujours tenir compte de l'impact sur la composition nutritive et la biodisponibilité lorsqu'on décide du besoin d'utiliser des techniques particulières de traitement en vue d'obtenir des niveaux de sécurité de contamination microbienne ou d'éliminer les contaminants ou de donner aux aliments un goût plus agréable et ainsi les rendre plus comestibles et digestibles. La plupart des traitements de conservation des aliments éliminent les éléments nutritifs d'une manière ou d'une autre, bien qu'elles puissent rendre certains éléments nutritifs plus biodisponibles et les éléments nutritifs qui restent dans les produits alimentaires plus accessibles à la consommation en les rendant plus comestibles. Il faut tenir compte de l'impact de l'irradiation gamma sur la valeur nutritionnelle des aliments. Le bœuf haché contient des niveaux importants de plusieurs éléments nutritifs, tels que la niacine, la riboflavine, la vitamine B<sub>6</sub>, la vitamine B<sub>12</sub>, les lipides, les protéines et les minéraux. Les effets de l'irradiation sur les éléments nutritifs dans le bœuf haché peuvent réduire la teneur en thiamine et possiblement en riboflavine et en niacine. Ces éléments nutritifs sont les seuls sensibles aux traitements d'irradiation. Les vitamines sont les éléments nutritifs les plus sensibles à la radiation. La thiamine est la vitamine la plus sensible à l'irradiation parmi les vitamines d'importance dans le bœuf. Les pertes de thiamine varient de 28 à 59 % à une dose d'irradiation de 5 kGy lorsque appliquées sur de la viande fraîche mais nulle si appliquée sur la viande congelée. La variation est donc principalement due à la température de l'aliment au cours de l'irradiation. Il faut noter que la cuisson cause également une perte importante de thiamine et les effets combinés de la cuisson et de l'irradiation, qui,

individuellement, sont destructifs, sont beaucoup moins importants que la somme des deux. En général, il a été constaté que les pertes de thiamine peuvent être réduites en diminuant la dose d'irradiation, en réduisant la température du produit de viande au cours de l'irradiation, et en irradiant dans des conditions d'anaérobioses. L'importance pour l'ensemble du régime alimentaire de la perte de la thiamine dans le bœuf haché causée par l'irradiation est sans conséquence. Il faut aussi noter que la perte possible de niacine et de riboflavine dans l'ensemble du régime alimentaire est, tout au plus, peu importante suite à l'irradiation du bœuf haché aux niveaux des doses proposés. Dans un rapport de Santé Canada (2003), il est mentionné que le fer peut changer de l'état oxydé à l'état réduit, ce qui pourrait avoir un impact sur la biodisponibilité, mais cela se produit également au cours de la cuisson et de l'entreposage. De nombreuses études ont démontré que l'irradiation n'affecte pas de façon importante les macroéléments dans les aliments (lipides, protéines et glucides). En conclusion, les pertes d'éléments nutritifs dans le bœuf haché irradié se limitent aux vitamines, à la thiamine et possiblement, à la riboflavine et à la niacine. Toutefois, la réglementation en matière d'irradiation permet le traitement sous les conditions n'affectant pas la valeur nutritive. Ainsi au Canada, la réglementation dit que la viande fraîche peut être irradiée à 2.5kGy et la viande congelée à 7kGy car ces conditions n'affectant pas ni la valeur nutritive ni les qualités organoleptiques de la viande.

D'autres changements doivent être considérés alors qu'un aliment est traité. Par exemple des changements de la pigmentation de la viande peuvent survenir au cours de l'entreposage. Si l'emballage sous vide ou le conditionnement sous atmosphère modifiée exempt d'oxygène est utilisé, il faudrait prendre un soin particulier à s'assurer que la

température d'entreposage ne dépasse pas +1°C afin d'empêcher le produit de se détériorer et qu'un développement ultérieur de *Clostridium botulinum* ne se manifeste.

#### 9. Facteurs réduisant la durée de conservation

En règle générale, la viande découpée en petites portions se détériore plus vite que les carcasses entières ou que les grandes découpes de base. Hacher la viande augmente la vitesse d'oxydation en raison de l'augmentation de la surface de contact avec l'oxygène et de la redistribution des graisses dans l'ensemble de la viande. L'augmentation de la teneur en graisse de la viande produit une diminution de sa durée de conservation. L'incorporation de viande mécaniquement séparée à un produit à base de viande réduit également la durée de conservation en raison de la haute teneur en graisses de la viande récupérée. D'autres traitements augmentant la teneur en graisses du produit à base de viande, la friture par exemple, peut conduire à un développement de saveurs indésirables durant la période de stockage. La présence de sel peut réduire la durée de conservation des produits congelés en raison de la vitesse accrue des processus conduisant au rancissement. Cela entraîne des caractéristiques anormales pour des produits comme les lardons qui montrent un rancissement accéléré sous l'effet de la baisse de température. Les produits à base de viande salée nécessitent l'incorporation d'un antioxydant de type ascorbate et d'être emballés sous vide (Kennedy, 1997).

<i>Formes de présentation à la vente</i>	<i>Mode de conservation</i>	<i>Conditionnement</i>	<i>DLC / DLUO<sup>5</sup> à titre indicatif</i>
<i>Viande hachée en portions : de 45-50-65 g de 80-100-120-150 g</i>	<i>Réfrigéré sous vide</i>	<i>Individuel</i>	<i>10-12 jours</i>
	<i>Réfrigéré sous atmosphère modifiée</i>	<i>Individuel, ou en barquettes de 5-10 pièces</i>	<i>6-7 jours</i>
	<i>Surgelé cru ou précuit</i>	<i>Sous housse, en carton d'environ 6 kg</i>	<i>12 mois</i>
<i>Viande hachée non formée vrac (= cheveux d'ange)</i>	<i>Réfrigéré sous atmosphère modifiée</i>	<i>Sacs de 1kg en carton de 6 kg</i>	<i>6-7 jours</i>
<i>Viande hachée non formée IQF (= égrenés)<sup>2</sup></i>	<i>Surgelé</i>	<i>Sacs de 1kg en carton de 6 kg</i>	<i>12 mois</i>
<i>Boulette de viande 20 g : de 15 ou 20% MG avec 31-60-70-80% viande</i>	<i>Surgelé</i>	<i>Sous housse, en carton d'environ 6 kg</i>	<i>12 mois</i>
<i>Préparations de viandes hachées assaisonnées à l'oignon, à la tomate...</i>	<i>Réfrigéré sous atmosphère modifiée</i>	<i>Individuel, ou en barquettes de 5-10 pièces</i>	<i>6-7 jours</i>
	<i>Surgelé</i>	<i>Sous housse, en carton d'environ 6 kg</i>	<i>12 mois</i>

**Tableau 3:** Modes de conservation et de conditionnement recommandés de la viande fraîche et transformée (tiré de GPEM/DA. 2003)

(DLC : Date Limite de Consommation, DLUO : Date Limite d'Utilisation Optimale)

Selon Statistique Canada, le nombre de maladie alimentaire relié à la contamination à la *Salmonella* est estimé à plus de 630 000 cas/an. Selon Santé Canada, le coût annuel relié au traitement de cette maladie est de \$98 million. Le nombre croissant de personnes touchées par les maladies alimentaires a ainsi encouragé l'utilisation de la technique d'irradiation. L'irradiation est la seule technologie pouvant permettre la destruction de bactéries pathogènes dans la viande et les produits carnés. Cependant, les produits de radiolyses libérés au cours de l'irradiation peuvent être responsables de réactions chimiques responsables du développement de mauvaises saveurs et d'arômes au cours de l'entreposage. Certaines épices et leurs constituants ont été identifiées comme ayant de bons pouvoirs antimicrobiens et peuvent de plus, contribuer à améliorer la saveur des aliments. L'addition de ces composés à certaines concentrations, avant un traitement d'irradiation, peut également améliorer la radiosensibilité des bactéries pathogènes, pouvant ainsi réduire la dose nécessaire pour les éliminer.

## 10. Les épices

### 10.1 Provenance et utilisation des épices

#### 10.1.1 La moutarde

Originnaire du bassin méditerranéen, on la cultive notamment au Canada, en Europe, aux États-Unis et en Inde. Il en existe environ 40 espèces dont les plus courantes sont la moutarde noire, la blanche et la brune. L'épice provient des graines, sauf dans le cas de la moutarde brune qui vient d'un légume vert dont les feuilles sont utilisées comme des épinards. La moutarde brune résulterait de l'hybridation d'un membre de la famille des choux et de la moutarde noire. La moutarde blanche vient d'Afrique du Nord, d'Europe (sauf les régions arctiques) et d'Asie occidentale (Proche-Orient), et a le goût amer. Toutefois elle est moins piquante que les autres. La moutarde noire a une saveur très piquante, car elle contient une forte quantité d'huiles essentielles. Les graines entières, entre autres, servent à cuisiner les jambons à cuire. La poudre de moutarde moulue a des propriétés fonctionnelles utiles dans la liaison des charcuteries.

#### 10.1.2 La cannelle

On la cultive principalement en Asie, d'où elle serait originaire, principalement en Indonésie, aux Seychelles, à Madagascar, dans les Caraïbes, au Srilanka, en Inde et au Brésil. Il existe plusieurs variétés de cannelle qui se ressemblent plus ou moins. La cannelle provient de l'écorce du cannelier qu'on récolte en couches minces et qu'on fait sécher. Lors du séchage, l'écorce s'enroule sur elle-même pour donner des bâtonnets que l'on retrouve sur le marché. Il y a aussi les éclats d'écorce qu'on utilise pour la mouture. La cannelle a une saveur

caractéristique sucrée et légèrement piquante. Elle assaisonne aussi les marinades et les viandes. Avec la muscade, le clou de girofle et le poivre, c'est une des quatre épices de base en charcuterie québécoise. Elle entre aussi dans la composition du cari.

### 10.1.3 L'origan

C'est quoi de l'origan ? On le trouve surtout dans les endroits très ensoleillés des pays du bassin méditerranéen et au Mexique. La plante est naturalisée en quelque endroit au Québec, par exemple sur le mont Royal à Montréal. L'origan s'apparente à la marjolaine, mais sa saveur est nettement plus prononcée. On l'utilise beaucoup dans la cuisine italienne.

### 10.2 L'aspect organoleptique des huiles essentielles

L'utilisation des huiles essentielles comme agent antimicrobien dans la nourriture engendre des répercussions organoleptiques importantes. La saveur de filet de bœuf traité avec 0,8% (p/v) d'origan d'Espagne, c'est trouvé acceptable après un stockage à 5°C et cuisson (Tsigarida *et al.*, 2000). La saveur, l'odeur et la couleur du bœuf haché contenant 1% d'huile d'origan (p/v) ont été améliorées avec un stockage sous vide à 5°C, la saveur étant presque indétectable après cuisson (Skandamis et Nychas, 2001). L'addition d'un enrobage d'huile de thym jusqu'à 0.9% (p/v) dans des crevettes cuites n'a eu aucun mauvais effet sur la saveur ou l'aspect. A une concentration de 1.8% l'huile de thym enrobée sur des crevettes diminue acceptablement les *Pseudomonas putida* (Ouattara *et al.* 2001). En raison de leurs propriétés organoleptiques les huiles pourraient donc être facilement incorporables



dans les produits alimentaires qui sont traditionnellement associés aux herbes et aux épices. Elles peuvent également être utilisées pour de la nourriture pas forcément liée aux épices si leur action antimicrobienne est assez efficace à de faibles concentrations, afin de ne pas affecter le goût de ces aliments.

### 10.3 Les huiles essentielles

Le premier but de l'utilisation des huiles essentielles aujourd'hui est pour les parfums ainsi que les saveurs qu'elles apportent à nos aliments. Leur première utilisation date d'il y a plus de 5000 ans. Les égyptiens se servaient des parfums pour l'embaumement, afin d'éloigner les parasites et de préserver les corps des morts presque intacts (La myrrhe et la cannelle étaient le plus souvent utilisées (communication personnelle, musée International de la parfumerie).

Les huiles essentielles sont des liquides huileux aromatiques qui ont été obtenus à partir de matières végétales (fleur, bourgeon, graines, feuille, brindille, écorce, herbes, écorce de fruit, fruit et racine). Il existe différentes méthodes pour les extraire : la fermentation, l'enfleurage (à chaud ou à froid), la distillation.

Plusieurs groupes de chercheurs ont trouvé des effets antimicrobiens et antiviraux des huiles essentielles (Mourey et Canillac, 2002, Deans et Ritchie, 1997). L'étude des huiles essentielles et de leurs composants majoritaires va donc permettre de mieux connaître leurs effets antimicrobiens ainsi que leurs modes d'action.

### 10.3.1 La composition des huiles essentielles

La méthode d'extraction des huiles essentielles fait varier leur composition. Il y a donc une différence organoleptique entre l'extraction par distillation avec de la vapeur d'eau et l'extraction faite avec des solvants comme l'hexane. Cette différence est observée au niveau de la composition des huiles (Kalemba et Kunicka, 2003). Une huile essentielle peut comporter plus de soixante composés différents (Senatore, 1996). Les composants principaux des huiles essentielles peuvent constituer jusqu'à 85% des composants totaux alors que les autres composants sont uniquement présents à l'état de trace. L'équipe de Cosentino (Cosentino *et al.*, 1999) a montré que les composés phénoliques sont les principaux responsables des propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles (ex : linalool, E-2-décanal, trans-cinnamaldéhyde, carvacrol, thymol,  $\gamma$  terpinène, p-cymène). Les composés phénoliques seraient capables de dissoudre la membrane des bactéries et donc de pénétrer à l'intérieur de celle-ci, où ils peuvent alors s'attaquer au métabolisme cellulaire. La comparaison de plusieurs types d'huiles essentielles de sauge a également permis d'observer des différences d'activité bactéricide, ce qui impliquerait un rôle synergique des composés mineurs des huiles essentielles (Marino *et al.*, 2001). La composition des huiles essentielles peut différer soit d'une usine à l'autre en fonction de la méthode dont elles sont extraites mais aussi en fonction de la moisson, des saisons, et des régions géographiques (Salzer, 1977, Daferera, D.J, *et al.*, 2000 et Jerkovic, *et al.*, 2001). Une huile essentielle qui est moissonnée pendant ou juste après la période de floraison possède une activité antimicrobienne plus forte (Marino *et al.*, 2001, Mc Gimpsey *et al.*, 1994).

### 10.3.2 Les tests d'activités antimicrobiennes dans les aliments

Bien qu'il y ait plusieurs études en cours, à l'heure actuelle peu d'aliments contenant des huiles essentielles ayant un effet antimicrobien ont été identifiés. Le tableau suivant représente des exemples d'études qui ont donné des résultats positifs pour un effet antimicrobien des huiles essentielles dans différents types d'aliments.

Huile essentielle et composé majoritaire	Produit alimentaire	Bactérie	Références
Eugenol	Viande	<i>Listeria monocytogenes</i>	Hao <i>et al.</i> , 1998
Cloue oil	Viande	<i>Listeria monocytogenes</i>	Vrinda Menon et Garg, 2001
	Légume	<i>Listeria monocytogenes</i>	Caillet <i>et al.</i> , 2006
Oregano oil	Viande	<i>Listeria monocytogenes</i>	Tsigarida <i>et al.</i> , 2000.
	Poisson	<i>Salmonella enteritidis</i>	Koutsoumanis <i>et al.</i> , 1999
	Légume	<i>Listeria monocytogenes</i>	Caillet <i>et al.</i> , 2006
Thyme oil	Viande	<i>Salmonella typhi</i>	Chiasson <i>et al.</i> , 2004
	Poisson	<i>Pseudomonas putida</i>	Ouattara <i>et al.</i> , 2001
		Flore naturelle	Harpaz <i>et al.</i> , 2003
	Légume	<i>Escherichia coli</i>	Singh <i>et al.</i> , 2002
Carvacrol	Poisson	<i>Salmonella typhimurium</i>	Kim <i>et al.</i> , 1995
	Produit laitier	<i>Listeria monocytogenes</i>	Karatzas <i>et al.</i> , 2001
	Riz	<i>Bacillus cereus</i>	Ultee <i>et al.</i> , 2000
	Fruits	Flore naturelle	Roller et Seedhar, 2002

**Tableau 4: Les huiles essentielles et les composés qui ont été étudiés pour améliorer la méthode de conservation des aliments.**

### 10.3.3 Les modes d'action des huiles essentielles

Le mécanisme d'action n'a pas été étudié en détail dans le passé, vu le nombre des différents groupes de composés chimiques présents dans les huiles essentielles. Il est possible que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuable à un seul mécanisme d'action spécifique, et qu'il y est plusieurs cibles dans la cellule (Skandamis et Nychas, 2001, Carson *et al.*, 2002). Le groupe d'Ultee (Ultee *et al.*, 2002) a montré que les dommages au niveau de la membrane cytoplasmique des cellules sont causés par les huiles essentielles qui contiennent des composés phénoliques comme le carvacrol (Ultee *et al.*, 1999). D'autres études ont également montré que les terpènes présents dans le thym avaient des interactivités avec la membrane bactérienne changeant ainsi la perméabilité cationique de celle-ci (Lambert *et al.*, 2001). L'équipe de Lambert a observé des fuites ioniques au niveau de la membrane dues à la présence du thymol et de carvacrol; ces deux molécules sont présentes dans le thym. L'huile de Tea tree stimule l'autolyse des cellules d'*E. coli* par une perte d'électrons, et une coagulation du cytoplasme. Une réduction de la force motrice par une désorganisation du gradient ionique de la cellule est aussi observée. Ultee *et al.*, (1999), et Caillet *et al.*, (2005) ont étudié les variations d'ATP intra et extra cellulaire de *E. Coli* ayant subi un traitement d'irradiation combiné à l'huile essentielle d'origan d'Espagne. Les dommages qu'ils ont observés au niveau des peptidoglycanes membranaires semblent être causés par l'huile essentielle qui bloque les enzymes responsables de la synthèse des peptidoglycanes. L'action de l'irradiation aurait quant à elle produit des altérations irréversibles au niveau de l'ADN. L'action de l'irradiation et de l'huile essentielle à également eu un effet synergétique sur la concentration d'ATP intra et extra cellulaire.

## **Hypothèses :**

Nous posons comme hypothèse que l'utilisation de l'irradiation en présence d'épices sur de la viande emballée sous atmosphère modifiée permettra d'augmenter la radiosensibilité bactérienne, de réduire la dose d'irradiation nécessaire à la décontamination et ce sans en changer le goût et aura le pouvoir d'augmenter le temps de conservation de la viande.

## **Objectifs :**

Les objectifs de cette recherche sont :

- 1- Sélectionner les huiles essentielles qui ont le meilleur pouvoir de radiosensibilisation bactérienne. Pour atteindre cet objectif, les  $D_{10}$  (kGy) seront calculés dans le bœuf haché mi-maigre (23% de gras) inoculé avec *Salmonella* Typhi ou *Escherichia coli* O157:H7 à un niveau bactérien de  $10^6$  CFU/G, et emballé sous air ou sous MAP à différentes doses d'irradiation.
- 2- Déterminer la concentration maximale en huiles essentielles qui n'affecte pas le goût de la viande de bœuf haché mi-maigre. En utilisant des tests hédoniques à 9 points pour les concentrations des composés présélectionnés.
- 3- Évaluer le temps de conservation en présence de la flore indigène ( $10^7$  UFC/g) dans le bœuf haché irradié à 0 et 1.5kGy en présence des huiles essentielles sélectionnées à la

concentration qui n'affecte pas le goût de la viande et avec des emballages sous air et sous MAP.

## **Chapitre 2**



**Article 1** : accepté pour publication dans Journal of Food Protection

Running head: radiosensitivity of pathogens in ground beef

**Effect of Selected Plant Essential Oils or Their Constituents and  
Modified Atmosphere Packaging on the Radiosensitivity of *Escherichia  
coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhi in Ground Beef**

M. Turgis<sup>1</sup>, J. Borsa<sup>2</sup>, M. Millette<sup>1</sup>, S. Salmieri<sup>1</sup>, and M. Lacroix<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Canadian Irradiation Center, Research Laboratory in Sciences Applied to Food, INRS-  
Institut Armand-Frappier, 531 Boulevard des Prairies, Laval, Québec, Canada, H7V 1B7

<sup>2</sup>MSD Nordion, 447, March Road, Kanata, Ontario, Canada, K2K 2P7

*\*To whom correspondence should be addressed: Professor Monique Lacroix, Tel: 450 687-5010 # 4489,  
Fax: 450-687-5792, E-mail: monique.lacroix@iaf.inrs.ca*

## Résumé

L'efficacité à augmenter la radiosensibilité bactérienne de *Salmonella Typhi* et *Escherichia coli* O157:H7 dans du bœuf haché mi-maigre (23% de gras) a été testée pour vingt six huiles essentielles. Le bœuf haché a été inoculé avec *E. coli* O157:H7 ou *Salmonella* ( $10^6$  UFC/g) et chaque huile essentielle ou un des composés majoritaires a été ajouté séparément à une concentration de 0.5% (P/P). Les échantillons de viande (10g) ont été emballés sous air et irradiés au  $^{60}\text{Co}$  à des doses de 0 à 1kGy pour déterminer la  $D_{10}$  de *E. coli* O157:H7 et de 0 à 1.75kGy pour déterminer la  $D_{10}$  de *S. Typhi*. Il a été observé, qu'en fonction du composé testé, il y a une augmentation de la sensibilité relative de 1 à 3.57 pour *E. coli* O157:H7 et de 1 à 3.26 pour *S. Typhi*. Les résultats montrent que l'addition d'huiles essentielles ou de leurs composés majoritaires avant l'irradiation permet de réduire la dose d'irradiation nécessaire pour éliminer les deux pathogènes. En présence d'huiles essentielles de cannelle de Chine, d'origan d'Espagne, la dose minimale permettant l'élimination des bactéries est réduite de 1.2 à 0.35 kGy pour *E. coli* O157:H7 et de 1.4 à 0.5kGy pour *S. Typhi*. La cannelle, l'origan et la moutarde sont les huiles essentielles sélectionnées pour leur efficacité à augmenter la radiosensibilité.

## ABSTRACT

Twenty-six different essential oils were tested for their efficiency to increase the relative radiosensitivity of *E. coli* and *S. Typhi* in medium fat ground beef (23% fat). Ground beef was inoculated with *E. coli* O157:H7 or *Salmonella* ( $10^6$  CFU/g) and each essential oil or one of their main constituents was added separately at a concentration of 0.5% (wt/wt). Meat samples (10 g) were packed under air or under modified atmosphere (MAP) and irradiated at doses from 0 to 1 kGy for the determination of decimal reduction dose ( $D_{10}$ ) value of *E. coli* O157:H7 and from 0 to 1.75 kGy for the determination of  $D_{10}$  value of *S. Typhi*. Depending on the compound tested, the relative radiation sensitivity increased from 1 to 3.57 for *E. coli* O157:H7 and from 1 to 3.26 for *S. Typhi*. Addition of essential oils or their constituents before irradiation also reduced the irradiation dose needed to eliminate both pathogens. In the presence of Chinese cinnamon or Spanish oregano EOs, the minimum dose required to eliminate the bacteria was reduced from 1.2 to 0.35 and from 1.4 to 0.5 for *E. coli* O157:H7 and *S. Typhi*, respectively. Cinnamon, oregano and mustard EOs were found most effective in increasing radiosensitivity.

**Keywords:** *Escherichia coli*, *Salmonella Typhi*, essential oils, irradiation, beef, radiosensitivity, modified atmosphere packaging.

Gamma irradiation is used as a method of food preservation in more than 40 countries, including Belgium, Canada, France, USA and Netherlands (7). This process has enormous potential for extending the shelflife and eliminating pathogenic bacteria such as *E. coli* and *Salmonella* spp. which are principally responsible for foodborne illnesses associated with ground beef.

This process involves exposing food to a specific dose of ionizing radiation from, for example  $C^{60}$ , a radioisotope of Cobalt. According to Roberts *et al.* (15), an irradiation dose of 7 kGy could increase the shelflife of ground beef patties from 7 to 42 days when irradiated under frozen conditions (-80°C) and stored at 4°C.

The use of modified atmosphere packaging (MAP) with high concentration of oxygen and carbon dioxide atmosphere could inhibit the normal spoilage flora and extend the shelflife of meat and seafood by two or three times (20). Tremonte *et al.* (21) studied the effect of MAP on the shelflife of fresh meat products. Results showed that a high concentration of CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> resulted in a longer shelflife for fresh sausages (21). Pournis *et al.* (14) studied the quality and freshness characteristics of pelagic mullet and the effect of MAP on the shelflife extension of refrigerated Mediterranean mullet. They observed that the *Enterobacteriaceae* population was lower in products stored under MAP than other bacterial groups. Sivertsvik (17) reported that the optimum gas composition for MAP of farmed cod before onset of *rigor mortis* was determined to be 63 ml O<sub>2</sub> and 37ml CO<sub>2</sub> per 100ml gas mixture.

Essential oils (EOs) are known as antimicrobial agents that could be used to control food spoilage and foodborne pathogenic bacteria (1). According to the microbiological hurdle concept (19), the addition of natural or synthetic antimicrobial

compounds before  $\gamma$ -irradiation could increase the radiosensitivity (RS) of foodborne pathogens (6, 8, 9, 10, 12, 19). Chiasson *et al.* (4) reported that the addition of thyme EO or its main constituents before irradiation of ground beef increased the RS of *E. coli* and *S. Typhi* by up to 10 times under modified atmosphere conditions.

The main objective of the present study was to evaluate the radiosensitivity of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhi in presence of essential oils or their primary components when packaged under air or under modified atmosphere conditions. A second objective was to evaluate the efficiency of the EO compared to the isolated primary active components of the essential oils evaluated.

## MATERIALS AND METHODS

**Handling and irradiation of the meat.** Ground beef containing 23% of fat was purchased from a local supermarket (IGA, Laval, Québec, Canada) and brought to the Canadian Irradiation Centre under refrigeration conditions ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ). The ground beef (450g/portion) was vacuum-packaged and sterilized by irradiation using a IR-147 underwater calibrator (MDS Nordion, Kanata, Ontario, Canada) equipped with a  $^{60}\text{Co}$  source. A radiation dose of 25 kGy was delivered at a dose rate of 9.5 kGy/h and a temperature of  $-80^\circ\text{C}$  in order to sterilize the meat. The ground beef was then stored at  $-80^\circ\text{C}$ .

**Preparation of bacterial cultures.** *E. coli* O157:H7 (EDL 933) was obtained from Prof. Charles Dozois (INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Québec, Canada) while *Salmonella* Typhi (ATCC 19430) was obtained from the American Type Culture Collection (Rockville, Md.) and maintained at  $-80^\circ\text{C}$  in tryptic soy broth (TSB; Becton-Dickinson and company, Sparks, MD USA) containing glycerol (10% vol/vol). Before each experiment, stock cultures were propagated through two consecutive 24 h growth cycles in TSB at  $35^\circ\text{C}$  and washed twice in saline solution (0.85% wt/vol) to obtain working cultures containing approximately  $10^9$  CFU/ml.

**Antimicrobial compounds.** Spanish oregano, winter savory, Chinese cinnamon, blue cineole eucalyptus, blue cryptone eucalyptus, atlas cedarwood, lemongrass, clove, pennyroyal, green mint, green anise and santalwood EOs were provided by Robert et Fils (Montréal, Québec, Canada). The following primary constituents of the EOs including limonene, geraniol, *p*-cymene, linalyl acetate, citral, linalool, eugenol, carvone, and  $\gamma$ -terpinene were purchased from Sigma-Aldrich (Oakville, Ontario, Canada). Mustard

essential oil and allyl isothiocyanate as a main constituent of mustard were provided by Hilltech (Vankleek Hill, Ontario, Canada). Liquid smoke and Tabasco were purchased at a local supermarket (IGA, Laval, Québec, Canada). Each compound was tested at a final concentration of 0.5% (wt/wt)

**Meat preparation and inoculation procedures.** A 450 g ground beef sample was inoculated with working cultures of *E. coli* or *S. Typhi* to obtain a final concentration of  $10^6$  CFU/g. Inoculated ground beef samples were mixed for 1 min with a sterilized spoon. The antimicrobial compound was then added at a concentration of 0.5% (wt/wt) and beef samples were mixed for another 1 min. After 1 min mixing period to achieve uniform dispersal throughout the sample, meat samples (25 g each) were packed in 0.5 mil metallicized polyester/2-mil ethylene vinyl acetate copolymer bags (205 by 355 mm, Winpack, St-Léonard, Québec, Canada). The bags were sealed under air (78.1% N<sub>2</sub>, 20.9% O<sub>2</sub>, and trace amounts of other gases) or modified atmosphere (MAP) (O<sub>2</sub>: 60%, CO<sub>2</sub>: 30% and N<sub>2</sub>: 10%) and stored at 4°C until irradiation treatment (approximately 15 h).

**Bacterial radiosensitivity evaluation.** Inoculated meat samples were irradiated at the Canadian Irradiation Center under refrigerated conditions at 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, and 1 kGy for determining the  $D_{10}$  value of *E. coli* and at 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5 and 1.75 kGy for determining the  $D_{10}$  value of *S. Typhi*. A UC-15A underwater calibrator (MDS Nordion, Kanata, Ont, Canada) equipped with a <sup>60</sup>Co source having a dose rate of 19.382 kGy/h was used. Samples were analyzed immediately after irradiation.

**Microbiological analysis.** Each sample was homogenized for 1 min in sterile peptone water (0.1% wt/vol) using a Lab-blender 400 stomacher (Laboratory Equipment, London, UK). From this mixture, serial dilutions were prepared, pour plated into tryptic soy agar (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA), and incubated at 35°C during 24 h for the enumeration of *E. coli* or *S. Typhi*. The detection minimal level was 10 cfu/g.

**Calculation of relative radiation sensitivity.** Relative radiation sensitivity was calculated using the following equation:

Relative radiation sensitivity = (radiation  $D_{10}$  value of the control samples) / (radiation  $D_{10}$  value of samples treated in the presence of the antimicrobial compounds).

The  $D_{10}$  value is defined as the radiation dose required to achieve a 90% reduction (reduction by 1 log CFU) in viable *S. Typhi* or *E. coli* on the inoculated ground beef. The  $D_{10}$  value was determined by calculating the reciprocal of the slope of the trendline produced by plotting log CFU per Gram versus the irradiation dose.

**Statistical analysis.** Each experiment was conducted in two replicates. For each replicate and for each dose of irradiation, three samples were analyzed. Ten radiation doses were evaluated for each experiment. For the  $D_{10}$  value calculations, the kinetics of bacterial destruction by irradiation with *S. Typhi* or *E. coli*, with or without antimicrobial compounds was evaluated by linear regression. Bacterial counts (log CFU per Gram) were plotted against radiation doses, and the  $D_{10}$  values were calculated. Results were



analyzed with the SPSS proGram (SPSS, Chicago, IL., USA) and means comparison between each treatment were based on Duncan's multiple range tests ( $P \leq 0.05$ )

## RESULTS AND DISCUSSION

The  $D_{10}$  values and relative sensitivities of *E. coli* and *S. Typhi* in presence of antimicrobial compounds when added to medium fat ground beef and packed under air are shown in Table 1 and 2, respectively. A radiation  $D_{10}$  value of 0.213 kGy was observed for *E. coli* in control samples (Table 1). Seven EOs or EO components increased the radiation sensitivity of *E. coli*. Winter savory EO, mustard EO, allyl isothiocyanate, Spanish Oregano EO, liquid smoke, clove EO, and cinnamon EO reduced the  $D_{10}$  values to 0.067, 0.072, 0.072, 0.071, 0.077, 0.077 and 0.087 kGy, respectively, from the control  $D_{10}$  value of 0.213 kGy. These values represented an increase in relative radiation sensitivity of 3.18, 2.96, 2.96, 3.00, 2.77, 2.77 and 2.44 fold, respectively. The lowest efficiencies were observed for blue cryptone eucalyptus (210), blue cineole eucalyptus (110) and limonene where no increased RS effect was observed. Moreover, addition of pennyroyal decreased the RS of *E. coli*, significantly ( $P \leq 0.05$ ) with a  $D_{10}$  value of 0.241 kGy. Hence, it could be hypothesized that this EO protects *E. coli* from  $\gamma$ -irradiation.

A radiation  $D_{10}$  value of 0.270 kGy was observed for *S. Typhi* in control samples (Table 2). Spanish oregano EO and Chinese cinnamon were the most effective compounds in increasing the RS of *S. Typhi*. Addition of these EO in meat samples reduced the radiation  $D_{10}$  values to 0.087 and 0.104 kGy or an increased relative sensitivity of 3.10 and 2.56 times, respectively. Increased relative sensitivity was also observed in presence of mustard EO, allyl isothiocyanate and winter savory EO where the  $D_{10}$  values of *S. Typhi* were increased 2.31, 1.75 and 1.72 fold, respectively. Clove EO and eugenol had lower efficiency ( $P \leq 0.05$ ) with relative sensitivities of 1.42 and 1.23

times. In presence of liquid smoke, and *p*-cymene no RS effect was observed and pennyroyal, blue cryptone eucalyptus (210), blue cineole eucalyptus (110) and Tabasco decreased radiosensitivity of *S. Typhi* significantly ( $P \leq 0.05$ ) (Table 2). Hence, it can be hypothesized that these compounds protect or decrease the sensitivity of *S. Typhi* from  $\gamma$ -irradiation.

Burt (1) has reviewed numerous studies demonstrating the antibacterial activity of EOs against various pathogenic bacteria, such as *Listeria monocytogenes*, *S. Typhimurium*, *E. coli* O157:H7, *Shigella dysenteriae*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* at 0.2 to 10 $\mu$ l/ml. A number of EOs and several of their individual components exhibit antibacterial activity against foodborne pathogens *in vitro* and, to a lesser extent, in foods. The phenolic components are most active and appear to act principally as membrane disruptors. Gram-positive organisms are generally more sensitive to EOs than Gram-negative organisms. Moreover, Chiasson *et al.* (4) demonstrated that 1% carvacrol increased the relative sensitivity to  $\gamma$ -irradiation by 2.2 folds of *E. coli* and *S. Typhi* in ground beef patties as compared with the untreated samples. The present study has demonstrated that eight other compounds have a significant RS effect against *E. coli* and *S. Typhi* in medium fat ground beef. The major components of the EOs (Table 1) can constitute as high as 85% of all compounds present in the oil while many other compounds are detected in trace amounts (5). When the major constituents of some EOs were tested, i.e., eugenol representing 75% of the total clove constituents, the RS value obtained was lower than the RS observed in presence of clove EO. This suggests that the minor constituents may have contribute to the effect of the RS of the whole EO. As study of sage EO components demonstrated variable bactericidal

activity suggesting the synergistic role of major and minor constituents of the EOs (13). In contrast, allyl isothiocyanate, the main constituent of mustard EO (20), showed the same RS against bacteria as whole mustard EO.

Result obtained for *E. coli* under MAP conditions showed that, except for cinnamon, the RS for *E. coli* and *S. Typhi* were significantly higher ( $p \leq 0.05$ ) under MAP regardless of the presence or the absence of antimicrobial compounds. Without antimicrobial compounds, MAP reduced the  $D_{10}$  value from 0.213 kGy to 0.155 kGy or a 1.37 fold increase in the relative radiation sensitivity (Table 3). The presence of antimicrobial compounds and the MAP condition appeared to have a synergistic effect on the RS of *E. coli*. The  $D_{10}$  values of *E. coli* in presence of cinnamon EO, mustard EO and oregano EO were 0.096, 0.060 and 0.049 kGy, under MAP, representing increased relative radiation sensitivities of 2.22, 3.55 and 4.39 times, respectively compared to the control in air (Table 3).

The addition of antimicrobial compounds and MAP had a marked effect on the radiation dose necessary to reduce *E. coli* under detection level ( $< 10$  cfu/g) in ground beef. The radiation dose necessary to reduce *E. coli* under detection level in ground beef without antimicrobial compound was 1.2 kGy under air and 0.97 kGy under MAP (Table 3). Under air, the addition of mustard EO, oregano EO and cinnamon EO reduced the lethal dose from 1.2 kGy to 0.4, 0.5 and 0.65 kGy respectively (Table 3). When packed under MAP, the radiation dose necessary to reduce *E. coli* under detection level in ground beef in presence of EO, was 0.62, 0.35 and 0.32 kGy in presence of cinnamon EO, oregano EO and mustard EO respectively (Table 3).

Results indicated that EOs evaluated increased the radiosensitivity of *E. coli* in ground beef. The most efficient was oregano EO under MAP. A relative RS of 3.00 and 4.39 was observed under air and MAP, respectively (Tables 1, 3). The addition of mustard EO was also effective where the RS increased from 2.96 to 3.5, when air was replaced by MAP packaging. In contrast, cinnamon and MAP slightly decreased the RS of *E. coli* as compared to storage in air.

Results indicated that *S. Typhi* was more resistant to  $\gamma$ - irradiation than *E. coli*. In air without essential oil, the dose needed to reduce *E. coli* under detection level was 1.2 kGy while the minimal dose to reduce *S. Typhi* under detection level was 1.4 kGy. Similar results were obtained by Chiasson *et al.* (4). In absence of any antimicrobial compound, the  $D_{10}$  value of *S. Typhi* was reduced from 0.270 to 0.099 kGy when irradiation treatment was done under MAP representing a 2.73 fold increase ( $p \leq 0.05$ ) compared to the control (Table 3). The  $D_{10}$  values of *S. Typhi* in presence of cinnamon, mustard and oregano EOs under MAP were 0.075, 0.062 and 0.049 kGy representing an increase of the relative radiation sensitivity of 3.60, 4.35 and 5.51 times, respectively (Table 3). Without antimicrobial compound, the radiation dose necessary to reduce *S. Typhi* under detection level in ground beef was 1.4 kGy under air, but the lethal dose was reduced to 0.51 kGy under MAP (Table 3). When ground beef was packed in air, the lethal dose was 0.58, 0.5 and 0.6 kGy, respectively in the presence of mustard, oregano and cinnamon EOs. When ground beef were packed under MAP, the radiation dose necessary to reduce *S. Typhi* under detection level in ground beef was 0.5 kGy in presence of oregano EO, 0.4 kGy in presence of cinnamon and 0.35 kGy in presence of mustard (Table 3). The most effective compound was oregano EO under MAP

atmospheres where relative sensitivities of 3.10 and 5.51 were observed under air and MAP, respectively.

The combination of EOs or their major constituents with irradiation had an apparent additive or synergistic effect on inactivation of *E. coli* and *S. Typhi* by irradiation in medium fat ground beef. Mahrouf *et al.* (12) suggested that irradiated microorganisms in combination with other treatments are less resistant than untreated cells to adverse environmental conditions (changes in temperature, pH, nutrients, etc.). The ionizing radiation initiates a series of events that can cause impairment of structural or metabolic functions. Numerous works were done on the possible mechanisms of action of EOs or their constituents. Some demonstrated that fragmentation of DNA prevents microbial replication while other EOs aimed the protein synthesis, the proton motive force, disrupt the bacterial membrane or modify the cytoplasmic pH (1, 3, 5, 11, 16, 18, 22). Caillet *et al.* (2) showed that Spanish oregano and irradiation caused the release of intracellular ATP and induced important decrease of the high molecular weight peptidoglycan in *E. coli* O157:H7 treated-cell membrane.

In conclusion, the results presented in this study indicate that RS of *E. coli* and *S. Typhi* in medium fat ground beef is possible through the addition of spice EOs or their constituents under air. Chinese cinnamon or winter savory EOs were the most effective at increasing the RS of *E. coli* or *S. Typhi*, respectively. The addition of pennyroyal EOs seemed to protect *E. coli* and *S. Typhi* from  $\gamma$ -irradiation. The presences of EOs and MAP have potential synergistic effects on irradiation treatment to increase the radiosensitivity

of both bacteria. However, *S. Typhi* was more sensitive under MAP than *E. coli*. Oregano and mustard EOs had the greatest effect on RS of *E. coli* and *S. Typhi* in ground beef.

## ACKNOWLEDGMENTS

This research was supported by the Natural Sciences and Engineering research council of Canada (NSERC) through the RDC program and by a research contract under a research agreement with MDS NORDION (Ottawa, Ontario, Canada). The authors thank Winpak (Winnipeg, MB, Canada) for providing the meat packaging material.

## REFERENCES

- 1 Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Intl. J. Food Microbiol.* 94:223-253.
- 2 Caillet, S., F. Shareck, and M. Lacroix. 2005. Effect of gamma radiation and oregano essential oil on murein and ATP concentration of *Escherichia coli* O157:H7. *J. Food Prot.* 68:2571-2579.
- 3 Carson, C.F., B.J. Mee, and T.V. Riley. 2002. Mechanism d'action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:1914-1920.
- 4 Chiasson, F., J. Borsa, B. Ouattara, and M. Lacroix. 2004. Radiosensitization of *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhi in ground beef. *J. Food Prot.* 67:1157–1162.
- 5 Cosentino, S., C.I. Tuberoso, B. Pisano, M. Satta, V. Mascia, E. Arzedi, and F. Palmas. 1999. *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of sardiian *Thymus* essential oil. *Lett. Appl. Microbiol.* 29:130-135.



- 6 Giroux, M., B. Ouattara, R. Yefsah, V. Smoragiewicz, L. Saucier, and M. Lacroix. 2001. Combined effect of ascorbic acid and gamma irradiation on microbial and sensorial characteristics of beef patties during refrigerated storage. *J. Agric. Food Chem.* 49:919–925.
- 7 International Consultative Group on Food Irradiation. 1999. Facts about food irradiation. *A series of fact sheets from the international consultative group on food irradiation*. Joint FAO/IAEA programme nuclear techniques in food and agriculture, <http://www.iaea.org/proGrammes/nafa/d5/public/foodirradiation.pdf>, accessed on October, 9, 2007.
- 8 Lacroix, M., J. Borsa, F. Chiasson, and B. Ouattara. 2004. The influence of atmosphere conditions on *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhi radiosensitization in irradiated ground beef containing carvacrol and tetrasodium pyrophosphate. *Radiat. Phys. Chem.* 71:59–62.
- 9 Lacroix, M., F. Chiasson, J. Borsa, and B. Ouattara. 2004. Radiosensitization of *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhi in presence of active compounds. *Radiat. Phys. Chem.* 71:63–66.
- 10 Lacroix, M., and B. Ouattara. 2000. Combined industrial processes with irradiation to assure innocuity and preservation of food products a review. *Food Res. Int.* 33:719–724.

- 11 Lambert, R.J., P.N. Skandamis, P.J. Coote, and G.J. Nychas. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.* 91: 453-462.
- 12 Mahrouf, A., S. Caillet, J. Nketsia-Tabiri, and M. Lacroix. 2003. Microbial and sensory quality of marinated and irradiated chicken. *J. Food Prot.* 66:2156-2159.
- 13 Marino, M. Bersani, C. Comi, G. 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oil from Lamiaceae and compositae. *Intl. J. Food Microbiol.* 67:187-195.
- 14 Pournis, N., A. Papavergou, A. Badeka, M.G. Kontominas, and I.N. Salvvaidis. 2005. Shelf life extention of refrigerated Mediterranean mullet (*mullus surmuletus*) using modified atmosphere packaging. *J. Food Prot.* 68:2201-2207.
- 15 Roberts, W.T., and J.O. Weese. 1998. Shelf life of ground beef patties treated by gamma radiation. *J. Food Prot.* 61:1387-1389.
- 16 Rocelle, M., S. Clavero, J. D. Monk, L. R. Beuchat, M. P. Doyle, and R. E. Brackett. 1994. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonellae*, and *Campylobacter jejuni* in raw ground beef by gamma irradiation. *Appl. Environ. Microbiol.* 60:2069-2075.

- 17 Sivertsvik M. 2005. The optimized modified atmosphere for packaging of pre-rigor filleted farmed cod (*gadus morhua*) is 63ml/100ml oxygen and 37ml/100ml carbon dioxide. *LWT- Food Sci. Technol.* 40:430-438.
- 18 Skandamis, P., K. Koutsoumanis, K. Faseas, and G.J.E. Nychas. 2001. Inhibition of oregano essential oil and EDTA on *Escherichia coli* O157:H7. *Ital. J. Food Sci.* 13:65-75.
- 19 Suresh, P., V. K. Ingle, and V. Vijayalakshmi. 1992. Antibacterial activity of eugenol in comparison with other antibiotics. *J. Food Sci. Technol.* 29:254-256.
- 20 Stammen, K., D. Gerdes, and F. Caporaso. 1990. Modified atmosphere packaging of sea food. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 29:301-331.
- 21 Tremonte, P, E. Sorrentino, M. Succi, A. reale, G. Maiorano, and R. Coppola . 2005. Shelf life of fresh sausages stored under modified atmospheres. *J. Food Prot.* 68:2686-692.
- 22 Ultee, A., M.H. Bennik, and R. Moezelaar. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:1561-1568.

TABLE 1. Radiation sensitivity of *Escherichia coli* O157:H7 (EDL 933) in medium fat ground beef packed under air in presence of various active compounds

Essential oil	Main constituents	D10 value (kGy) <sup>a</sup>	Relative sensitivity <sup>b</sup>
control		0.213 ± 0,005 JK	1.00
Atlas cedarwood	α-β-γ himachalene 67%	0.179 ± 0,013 FGH	1.19
Chinese cinnamon	cinnamaldehyde 64%	0.087 ± 0,005 AB	2.44
Clove	eugenol 75%	0.077 ± 0,001 A	2.77
Eucalyptus 110	α-β Thuyone 57%, camphre 24%	0.215 ± 0,030 JKL	0.99
Eucalyptus 210	α-β Thuyone 51%, camphre 23%	0.216 ± 0,000 JKL	0.99
Green anise	trans Anethol 83%	0,216 ± 0,028 JKL	0.99
Green mint	carvone 60%, limonene 11%	0.198 ± 0,011 HIJ	1.08
Lemongrass	geranial 42%, neral 29%	0.167 ± 0,006 DEFG	1.28
Lesser calamint	limonene 22%, menthone 19%,	0.158 ± 0,003 CDEF	1.35
Liquid smoke	water, hickory smoke, salt	0.077 ± 0,002 A	2.77
Spanish oregano	carvacrol 59%	0.071 ± 0,008 A	3.00
Mustard	allyl isothiocyanate 95%	0.072 ± 0,004 A	2.96
Pennyroyal	menthol pulegeone 81%	0.241 ± 0,001 L	0.88
Santalwood	santanols 60%	0.186 ± 0,016 GHI	1.15
Tabasco	vinegar, red pepper, salt	0.133 ± 0,001 C	1.60
Winter savory	carvacrol 34%	0.067 ± 0,001 A	3.18
<b>Main constituents</b>			
Allyl isothiocyanate	allyl isothiocyanate	0.072 ± 0,006 A	2.96
Carvone	Carvone	0.152 ± 0,013 CDE	1.40
Citral	Citral	0.189 ± 0,001 HIJ	1.13
Eugenol	Eugenol	0.147 ± 0,003 CD	1.45
Geraniol	Geraniol	0.108 ± 0,009 B	1.97
Limonene	Limonene	0.226 ± 0,025 KL	0.94
Linalool	Linalool	0.205 ± 0,007 IJK	1.04
Linalyl acetate	linalyl acetate	0.177 ± 0,001 EFGH	1.20
p-cymene	p-cymene	0.084 ± 0,006 AB	2.54
Terpinene	Terpinene	0.137 ± 0,001 C	1.56

<sup>a</sup> Values are mean ± standard deviation. Means with the same letter are not significantly different ( $P > 0.05$ )

<sup>b</sup> The relative radiation sensitivity represents the ratio of  $D_{10}$  value of control samples (without compound) to the  $D_{10}$  value of samples in presence of compounds (0.5%, wt/wt)

TABLE 2. Radiation sensitivity of *Salmonella* Typhi (ATCC 19430) in medium ground beef packed under air in presence of various active compounds

Essential oil	Main constituents	D10 value (kGy) <sup>a</sup>	Relative sensitivity <sup>b</sup>
Control		0.270 ± 0,014 IJK	1.00
Atlas cedarwood	α-β-γ himachalene 67%	0.225 ± 0,020 EFGH	1.20
Chinese cinnamon	cinnamaldehyde 64%	0.104 ± 0,011 A	2.56
Clove	eugenol 75%	0.190 ± 0,016 CDEF	1.42
Eucalyptus 110	α-β Thuyone 57%, camphre 24%	0.385 ± 0,028 LM	0.70
Eucalyptus 210	α-β Thuyone 51%, camphre 23%	0.371 ± 0,049 LM	0.73
Green anise	trans Anethol 83%	0.232 ± 0,042 FGHI	1.16
Green mint	carvone 60%, limonene 11%	0.208 ± 0,011 DEFG	1.30
Lemongrass	geraniol 42%, neral 29%	0.222 ± 0,004 DEFGH	1.22
Lesser calamint	limonene 22%, menthone 19%	0.250 ± 0,014 GHII	1.08
Liquid smoke	water, hickory smoke, salt	0.245 ± 0,009 GHII	1.10
Mustard	allyl isothiocyanate 95%	0.117 ± 0,014 AB	2.31
Pennyroyal	menthol pulegeone 81%	0.348 ± 0,006 L	0.78
Spanish oregano	carvacrol 59%	0.087 ± 0,001 A	3.10
Santalwood	santanols 60%	0.230 ± 0,006 FGHI	1.17
Tabasco	vinegar, red pepper, salt	0.409 ± 0,016 M	0.66
Winter savory	carvacrol 34%	0.157 ± 0,026 BC	1.72
<b>Main constituents</b>			
Allyl isothiocyanate	allyl isothiocyanate	0.154 ± 0,023 BC	1.75
Carvone	carvone	0.182 ± 0,004 CDE	1.48
Citral	citral	0.217 ± 0,006 DEFGH	1.24
Eugenol	eugenol	0.220 ± 0,011 DEFGH	1.23
Geraniol	geraniol	0.255 ± 0,007 HIJ	1.06
Limonene	limonene	0.262 ± 0,024 JK	0.93
Linalool	linalool	0.309 ± 0,018 K	0.87
Linalyl acetate	linalyl acetate	0.247 ± 0,009 GHII	1.09
p-cymene	p-cymene	0.282 ± 0,026 JK	0.96
Terpinene	terpinene	0.180 ± 0,008 CD	1.50

<sup>a</sup> Values are mean ± standard deviation. Means with the same letter are not significantly different ( $P > 0.05$ )

<sup>b</sup> The relative radiation sensitivity represents the ratio of  $D_{10}$  value of control samples (without compound) to the  $D_{10}$  value of samples in presence of compounds (0.5%, wt/wt)

TABLE 3. Radiation sensitivity of *Escherichia coli* O157:H7 (EDL 933) and *Salmonella* Typhi (ATCC 19430) in medium ground beef packed under MAP in presence of the most effective compounds)

Essential oil	Main constituents	D10 value <sup>a</sup> (kGy)	Relative sensitivity <sup>b</sup>	Radiation to reduce viable cells under detection level (kGy) <sup>c</sup>
<b><i>E. coli</i> O157:H7</b>				
Control air		0.213 ± 0,005 F	1.00	1.20
Control MAP		0.155 ± 0,001 E	1.37	0.97
Chinese cinnamon air	cinnamaldehyde 64%	0.087 ± 0,005 C	2.44	0.65
Chinese cinnamon MAP		0.096 ± 0,001 D	2.22	0.62
Mustard air	allyl isothiocyanate 95%	0.072 ± 0,004 B	2.96	0.40
Mustard MAP		0.060 ± 0,001 A	3.55	0.32
Spanish oregano air	carvacrol 59%	0.070 ± 0,008 B	3.00	0.50
Spanish oregano MAP		0.049 ± 0,004 A	4.39	0.35
<b><i>S. Typhi</i></b>				
Control air		0.270 ± 0,014 E	1.00	1.40
Control MAP		0.099 ± 0,012 BC	2.73	0.51
Chinese cinnamon air	cinnamaldehyde 64%	0.104 ± 0,011 CD	2.56	0.60
Chinese cinnamon MAP		0.075 ± 0,002 AB	3.60	0.40
Mustard air	allyl isothiocyanate 95%	0.117 ± 0,014 D	2.31	0.58
Mustard MAP		0.062 ± 0,004 A	4.35	0.35
Spanish oregano air	carvacrol 59%	0.087 ± 0,001 BC	3.10	0.50
Spanish oregano MAP		0.049 ± 0,001 BC	5.51	0.50

<sup>a</sup> Values are mean ± standard deviation. Means with the same letter are not significantly different ( $P > 0.05$ )

<sup>b</sup> The relative radiation sensitivity represents the ratio of  $D_{10}$  value of control samples (without compound) to the  $D_{10}$  value of samples in presence of compounds (0.5%, wt/wt). Relative sensitivity as compare to control under air.

<sup>c</sup> Radiation dose needed in order to reduce viable cells of pathogens under detection level (< 10 cfu/g)

## **Chapitre 3**

## **Analyses sensorielles du bœuf haché avec différentes concentrations en huiles essentielles sélectionnées**

### **1. Choix des huiles essentielles**

Grâce à la détermination des  $D_{10}$  dans le premier article présenté, nous avons pu savoir parmi les huiles essentielles que nous avons testées lesquelles ont le meilleur pouvoir radiosensibilisateur pour *E. coli* et *S. Typhi*. Ce sont donc les huiles essentielles de cannelle de Chine, d'origan d'Espagne et de moutarde qui vont être étudiées dans cette partie.

### **2. Préparation des échantillons**

La viande de bœuf haché a été achetée fraîche (3750g) et a été séparée en trois groupes de 1250g : en présence de d'huile essentielle de cannelle de Chine, d'huile essentielle d'origan d'Espagne et en présence d'huile essentielle de moutarde et cinq sous groupes pour la moutarde (250g avec 0.1%, 0.075%, 0.025%, 0.015% et 0% d'huile essentielle) et quatre sous groupes pour la cannelle et l'origan (250g avec 0.1%, 0.025%, 0.015% et 0% d'huile essentielle). Les différentes concentrations en huiles essentielles ont été homogénéisées dans la viande grâce à un mélangeur (1 minute).

### **3. Méthode de cuisson**

Les échantillons ont été cuits à la poêle à feu moyen en les mélangeant régulièrement au cours de la cuisson afin qu'ils soient homogènes jusqu'à une température interne de la viande de 80°C. L'évaluation sensorielle se faisait par la présentation consécutive de trois



plateaux avec sur chacun, les différentes concentrations en huiles essentielles. Tous les échantillons de viande ont été précuits et conservés à 4°C avant le service. Juste avant d'être servis les échantillons ont été réchauffés 1 minute aux micro-ondes afin qu'ils aient tous la même température de cuisson.

La viande a été servie dans des boîtes de Pétri numérotées à l'aide de codes aléatoires à 3 chiffres.

#### **4. Jury**

L'évaluation sensorielle de la viande hachée s'est faite par un jury de 10 personnes, étudiants ou membres du personnel de l'INRS-Institut Armand-Frappier. L'analyse a été effectuée en un jour. Les jurys constitués n'étaient pas entraînés ce qui nous permet de nous situer dans le même contexte d'appréciation que les consommateurs.

#### **5. Méthodes utilisées**

Les différents tests ont été réalisés dans un laboratoire d'analyse sensorielle, respectant les normes canadiennes, à une température de 20-22°C et sous lumière ambrée. Chaque échantillon de viande a été acheté, préparé, et dégusté le même jour.

Pour déterminer le degré d'acceptabilité de la saveur de la viande hachée, un test d'évaluation sensorielle utilisant un questionnaire de la méthode de notation à neuf points (test hédonique) a été soumis aux dégustateurs. Les jurés devaient se conformer aux instructions fournies sur la feuille pour l'ordre de dégustation des échantillons et ensuite sélectionner leur appréciation globale pour chaque échantillon grâce à l'échelle de goût qui allait de «me déplaît énormément à me plaît énormément».

Les résultats ont été compilés puis soumis au logiciel SPSS 10.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Une analyse de variance (ANOVA) et des tests de comparaison multiples de Duncan ont été appliqués pour comparer les différents groupes. Les moyennes étaient considérées significativement différentes lorsque  $P \leq 0.05$ .

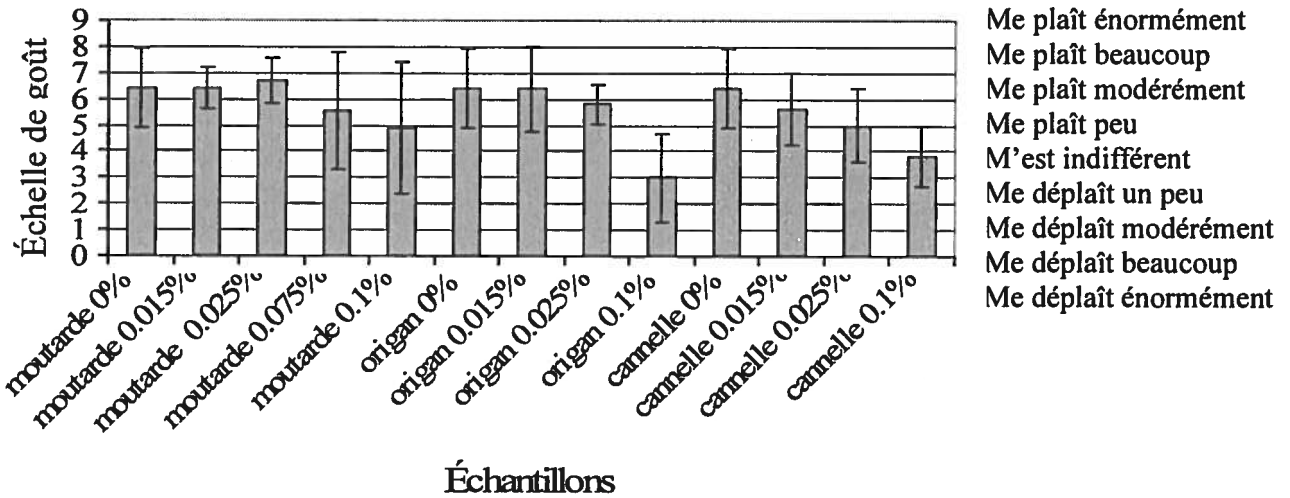
#### **6. Effet des huiles essentielles sur la qualité organoleptique du bœuf haché**

Le jury, composé de 10 personnes, a évalué la qualité organoleptique du bœuf haché par une échelle hédonique, en présence de différentes concentrations d'huiles essentielles de cannelle de Chine, d'origan d'Espagne et de moutarde. Les valeurs d'appréciation du critère étudié étaient donc basées sur une moyenne de 10 personnes.

Les résultats pour l'huile essentielle de moutarde ne montrent aucune différence significative ( $P > 0.05$ ) avec le témoin pour les concentrations à 0.015, 0.025 et 0.075% (P/P). En revanche l'ajout d'une concentration de 0.1% d'huile essentielle de moutarde affecte significativement le goût de la viande ( $P \leq 0.05$ ). Les résultats obtenus pour l'huile essentielle d'origan d'Espagne et de la cannelle de Chine ne montrent pas de différence significative avec le témoin pour les concentrations de 0.015 et de 0.025%. La concentration de 0.1% affecte significativement le goût de la viande ( $P \leq 0.05$ ) (Figure 3).

Les concentrations qui ont donc été choisies pour réaliser les tests de durée de vie en présence d'huiles essentielles sont de 0.025% pour l'huile essentielle de cannelle de Chine et d'origan d'Espagne, et 0.075% pour l'huile essentielle de moutarde.

**Analyse sensorielle du boeuf haché mi-maigre en  
présence de différentes concentrations d'huiles  
essentielles**



**Figure 3 :** Histogramme des résultats des analyses sensorielles (test hédonique) du boeuf haché mi-maigre en présence de différentes concentrations en huiles essentielles de moutarde, cannelle et origan.

## Chapitre 4

**Article 2:** Soumis à Journal of Food Protection

Running head: Combined treatments with irradiation and beef microbiology.

**Combined effect of natural endogenous compound, modified  
atmosphere and gamma irradiation on the microbial composition of  
ground beef**

Turgis, M<sup>1</sup>. Borsa, J<sup>2</sup>. and Lacroix, M.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>: Canadian Irradiation Center, Research Laboratory in Sciences Applied to Food, INRS-  
Institut Armand-Frappier, 531, Boulevard des Prairies, Laval, Québec, Canada, H7V 1B7

<sup>2</sup>: MDS Nordion, 447, March Road, Kanata, Ontario, Canada, K2K 2P7

*\*To whom correspondence should be addressed: Professor Monique Lacroix, Tel: 450 687-5010*

*# 4489, Fax: 450-686-5501, E-mail: monique.lacroix@iaf.inrs.ca*

**Keywords:** Shelf life, normal flora, essential oils, mustard, oregano, cinnamon,  $\gamma$ -irradiation, beef, radiosensitization, modified atmosphere packaging.

## Résumé

Les huiles essentielles de cannelle de Chine, d'origan d'Espagne et de moutarde ont été sélectionnées pour être utilisées en combinaison avec l'irradiation pour évaluer leur efficacité à éliminer les bactéries pathogènes et à augmenter la durée de vie du bœuf haché. La durée de vie a été fixée au temps de croissance des bactéries pour atteindre une concentration de  $10^7$  CFU/g de viande. La durée de vie du bœuf haché mi-maigre a été déterminée sur une période de 28 jours, pour la viande traitée avec les huiles essentielles (0.025% pour la cannelle de Chine et l'origan d'Espagne et 0.075% pour la moutarde). Les échantillons de viande qui contiennent les huiles essentielles sont emballés sous air (78.1 % N<sub>2</sub>; 20.9 % O<sub>2</sub> et des traces d'autres gaz) or sous atmosphère modifiée (60 % O<sub>2</sub>; 30% CO<sub>2</sub>; 10 % N<sub>2</sub>) et irradiés à une dose de 1.5kGy. Les échantillons de viande (10g) ont été prélevés durant la période d'entreposage afin d'en évaluer le contenu en flore totale mésophile aérobique, *Escherichia coli*, *Salmonella*, en coliformes totaux, en bactéries lactiques, et en *Pseudomonas*. La combinaison de traitement (irradiation sous MAP) en présence d'huile essentielle de cannelle, d'origan et de moutarde ont permis d'obtenir une durée de vie de 28 jours en comparaison à un jour pour l'échantillon contrôle.

## ABSTRACT

Selected Chinese cinnamon, Spanish oregano and mustard essential oils were used in combination with irradiation in order to evaluate their efficiency to eliminate pathogen bacteria and to extend the shelf life of medium fat ground beef (23% fat). The shelf life was fixed to the time where the growth level of the total count bacteria achieved  $10^7$  CFU/g. The shelf life of ground beef was determined for a period of 28 days, at 4°C, after treatment with essential oils (EOs). The EOs were applied at concentrations which were pre-determined not to negatively affect the sensory properties of the cooked meat (0.025% for Spanish oregano or Chinese cinnamon and 0.075% for mustard). Ground beef samples containing essential oils were then packed under air (78.1 % N<sub>2</sub>; 20.9 % O<sub>2</sub> and tracer amounts of other gases) or under modified atmosphere (60 % O<sub>2</sub>; 30% CO<sub>2</sub>; 10 % N<sub>2</sub>) and irradiated at a dose of 1.5kGy. Ground beef samples (10g) were taken during the storage period to evaluate the content of total mesophilic aerobic, *Escherichia coli*, *Salmonella*, total coliform, lactic acid bacteria, and *Pseudomonas*. The results showed that the mustard essential oil was the most efficient essential oils to reduce the total mesophilic count and to eliminate pathogenic bacteria. Except for the lactic acid bacteria and *Pseudomonas*, irradiation alone was the most efficient treatment to reduce the total mesophilic aerobic and the pathogenic bacteria. The combined treatment irradiation and essential oil had better efficiency to reduce the lactic acid bacteria and the *Pseudomonas* count especially in presence of mustard and cinnamon essential oils for lactic acid bacteria and in presence of oregano and mustard for *Pseudomonas*. The best combined treatment to extend the shelf life of ground beef to more than 28 days was the addition of

an essential oil nevertheless the essential oil in ground beef used and irradiation (1.5 kGy)  
under MAP condition.



## INTRODUCTION

Despite technological development during the last decade, the world-wide food losses are much raised. According to Health and Welfare Canada, the annual cost of spoilage of meats is greater than 500 M \$ (CAN) and costs of foodborne illnesses associated with consumption of meat-based products is estimated at 1 billion in Canada alone (2). Throughout the world, meat inspection authorities are encouraging or requiring meat packing plants to implement Hazard Analysis: Critical Control Point (HACCP) systems in their processes, with particular emphasis on the development of such systems for the control of the number of pathogenic bacteria deposited on carcasses during carcass dressing (15).

The irradiation is a solution to eliminate bacterial contaminations.  $\gamma$ -irradiation is used as a method of food preservation in more than 40 countries, including Belgium, Canada, France, USA and Netherlands (16). This process has an enormous potential to extend the shelf life and to eliminate pathogenic bacteria such as *E. coli* and *Salmonella* sp. which are principally responsible of ground beef infection. Ionizing radiation can assure the safety, extend the shelf life and improve the overall quality of food. According to Kim *et al.*(18) interest in the use of food irradiation increases following the 1997 US Food and Drug Administration approval of irradiation for pathogen control in unprocessed red meat and meat products. The process also benefits the consumer by reducing the risk of illness caused by foodborne diseases. Food irradiation may be achieved using low-dose, medium-dose, or high-dose levels of radiation. Low dose irradiation (<1 kGy) is used to delay sprouting of vegetables and aging of fruits; medium dose (between 1 and 10 kGy) is used to reduce the level of pathogenic organisms, similar

to pasteurisation high dose (>10 kGy) is used to achieve sterility of the product. Ahmed (1) reported that 37 countries have approved one or more items of irradiated food products for human consumption, and 25 countries have commercialized the irradiation process. The required doses to eliminate *Salmonella* generate off-flavor due to fatty acids and sulphur proteins oxidation, and these doses are superior to the regulation (2.5 kGy). The use of combined treatments in order to achieve an increase of the bacterial sensitiveness and to limit the oxidation reactions represents an alternative. The use of Essential Oils (EOs) in combination with irradiation seems to have a great potential. The EO can act as flavouring compounds and at the same times increase the radiosensitivity of *E. coli* and *Salmonella*. According to Chiasson *et al.* (9), the addition of carvacrol (a compound founded in thyme EO) in ground beef can increase the sensibility of *E. coli* and *Salmonella* by more than 2 times. Moreover, when the irradiation is done under MAP (60 % O<sub>2</sub>; 30% CO<sub>2</sub>; 10 % N<sub>2</sub>), the sensitivity of *Salmonella* increased by more than 10 times. However, the addition of carvacrol in ground beef at the concentration used (0.5%) affect significantly the taste of the meat.

The aim of this study was to evaluate the potential of the use of essential oils addition at a concentration who do not affect the sensory quality of the ground beef in combination with irradiation under air or under MAP, to extend the shelf life, to eliminate pathogenic bacteria (*E. coli*, *Salmonella*, total coliforms) and to reduce the total endogenous flora (total mesophilic aerobic, lactic acid bacteria and *Pseudomonas*). Based on previous studies (25, 26) three essential oils were evaluated Chinese cinnamon, Spanish oregano, and mustard. These EOs have shown good potential to eliminate i.e, *E.*

*coli*, *Salmonella*, *S. aureus*, *Listeria* and *Pseudomonas* on medium fat ground beef (23% fat) stored at 4°C during 28 days of storage.

## MATERIALS AND METHODS

**Handling and irradiation of the meat.** Ground beef containing 23% of fat was purchased at a local supermarket (IGA, Laval, Québec, Canada) and brought to the Canadian Irradiation Centre under refrigeration conditions ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ). The ground beef was vacuum-packaged and sterilized by irradiation at a dose of 25 kGy under frozen conditions ( $-80^\circ\text{C}$ ), using a IR-147 underwater calibrator (MDS Nordion, Kanata, Ontario, Canada) equipped with a  $^{60}\text{Co}$  source having a dose rate of 17.698 kGy/h.

**Preparation of bacterial cultures.** Ground beef containing 23% fat was purchased at a local supermarket (IGA, Laval, Québec, Canada). A natural flora extracted from 200g of ground beef homogenized in 200ml of sterile peptone water (0.1% wt/vol) and maintained at  $-80^\circ\text{C}$  in tryptic soy broth (TSB; Becton-Dickinson and company, Sparks, MD USA) in presence of glycerol (10% vol/vol) was used for meat inoculation. Before each experiment, stock cultures were propagated through two consecutive 24-h growth cycles in Tryptic Soy Broth (TSB) at  $35^\circ\text{C}$  and washed twice in saline solution (0.85% wt/vol) to obtain a working culture containing approximately  $10^9$  CFU/ml.

**Antimicrobial compounds.** Spanish oregano and Chinese cinnamon EOs were purchased from Robert et Fils (Montréal, Québec, Canada). Mustard essential oil was provided from Hilltech (Vankleek Hill, Ontario, Canada).

**Meat preparation and inoculation procedures.** Sixteen samples of medium fat ground beef (450 g) were inoculated with the working culture of the natural flora of ground beef to obtain a final concentration of  $10^7$  CFU/g, and mixed for 1 min with a sterilized spoon. The EO compound was then added at a concentration of 0.025% or

0.075% (wt/wt) depending of the EO used and ground beef samples were mixed for another 1 min. After 1-min mixing period to achieve uniform dispersal throughout the ground beef samples (25g each), the meat samples were packed in 0.5-mil metallised polyester/2-mil EVA copolymer bags (205 x 355mm, Winpack, St-Léonard, Québec, Canada). The bags were sealed under the appropriate atmosphere as under air (78.1% N<sub>2</sub>, 20.9% O<sub>2</sub>, and trace amounts of other gases) or under modified atmosphere MAP: (O<sub>2</sub>: 60%, CO<sub>2</sub>: 30% and N<sub>2</sub>: 10%) and stored at 4°C until irradiation treatment (approximately 15 h).

**Bacterial radiosensitivity evaluation.** Inoculated ground beef samples were irradiated at the Canadian Irradiation Center under refrigerated conditions at 0 and 1.5 kGy. A UC-15A underwater calibrator (MDS Nordion, Kanata, Ont, Canada) equipped with a <sup>60</sup>Co source having a dose rate of 17.698 kGy/h was used. Samples were analyzed immediately after irradiation and then at days (3, 7, 14, 21 and 28).

**Microbiological analysis.** Each sample was homogenized for 1 min in sterile peptone water (0.1% wt/vol) using a Lab-blender 400 stomacher (Laboratory Equipment, London, UK). From this mixture, serial dilutions were prepared, pour plated with tryptic soy agar (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) for the determination of total mesophilic aerobic (TMA). Chromocult coliform agar (EMD Chemicals inc, Gibbstown, NJ, USA) was used, for the determination of total coliform, *E. coli*, and *Salmonella*. *Pseudomonas* agar (EMD Chemicals inc, Gibbstown, NJ, USA) was used for *Pseudomonas* determination and MRS agar media (EMD Chemicals inc, Gibbstown, NJ, USA) was used for the determination of Lactic Acid Bacteria (LAB). All bacterial enumeration was done after incubation 24h at 35°C.

**Statistical analysis.** The experiment was done in triplicate and for each replicate three samples were analyzed for each treatment evaluated. Bacterial counts results (log CFU per Gram) were analyzed with the SPSS proGram (SPSS, Chicago, IL., USA) and means comparison between each treatment were based on Duncan's multiple range tests ( $P \leq 0.05$ ) in function of the storage time for each treatment and between treatment for each day of analysis.

## RESULTS AND DISCUSSION

**Total mesophilic aerobic bacterial:** The results of total mesophilic aerobic bacteria (TMA) population during storage of ground beef are shown in table 1a. Results showed that the shelf life for the control packaged under air is 1 day. Also, at day 1, the presence of EO does not affect the level of TMA nevertheless the EO used. The effect of irradiation alone reduced by 4.75 log (CFU/g) the level of TMA. The effect of irradiation in presence of oregano or mustard EO were the most effective treatments, showing respectively 4.24 and 4.72 log (CFU/g) reductions as compared to the control. MAP alone reduced by 1.07 log the level of TMA as compared to the control packaged under air. The combination of MAP and irradiation reduced the level of TMA below the level of detection during 28 days. Except for mustard, the addition of EO on control ground beef did not affect significantly the total mesophilic aerobic bacterial count. When mustard EO was added and when ground beef was packaged under MAP, this combined treatment was able to extend the shelf life to 3 days as compared to 1 day for the control packaged under air or under MAP. When all EOs were combined with irradiation treatment and MAP packaging the shelf life of the ground beef was estimated at more than 28 days.

***Escherichia coli:*** The results of *Escherichia coli* microbial count population during storage of ground 1beef are shown in table 1b. The effect of EO on *E. coli* showed that mustard was the most effective EO to reduce the level of *E. coli* at day 1 showing a reduction of 0.81 log (CFU/g). Without EO, the irradiation treatment reduced by 6 log (CFU/g) the level of *E. coli* to below the level detection. When samples were irradiated

without EO or in presence of EOs, the level of *E. coli* was stable and below the level of detection (<10 CFU/g) until the end of the experiment. MAP alone reduced by 0.67 log (CFU/g), the level of *E. coli*. When mustard EO was added to the meat packed under MAP, this compound was able to stabilize the *E. coli* level to 3.72-3.98 log (CFU/g) during 14 days. The combination of MAP and irradiation in presence or not of EOs reduced the level of *E. coli* below the level of detection (<10 CFU/g) during 28 days of storage nevertheless the EO used.

***Salmonella*:** The results of the content of *Salmonella* in ground beef during storage, are shown in table 1c. Results showed that at 1<sup>st</sup> day, the effect of EO on *Salmonella* showed that this bacteria was sensible to the presence of all EOs tested. Mustard and cinnamon EOs were the most effective EOs showing respectively a 3.26 and 2.93 log (CFU/g) reductions. Oregano was the less effective EO showing a 2.11 log (CFU/g) reduction. An irradiation dose of 1.5 kGy without or in presence of Eos was also able to reduce the level of *Salmonella* below the level of detection (<10 CFU/g) until the end of the experiment. The MAP storage condition was able to reduce the level of *Salmonella* by 1.72 log (CFU/g). At day 1, when ground beef was treated with EOs and packaged under MAP, a 3.09, 2.99 and 3.59 log (CFU/g) reduction was respectively observed, in presence of cinnamon, oregano, or mustard (Figure 1c). When mustard EO was added to the ground beef and when the samples were then stored under MAP, the level of *Salmonella* was below the level of detection (<10 CFU/g) during 14 days. The irradiation treatment without EO and done under air or under MAP reduced the level of *Salmonella* below the level of detection (<10 CFU/g) during 28 days.



**Total coliform:** The level of total coliform population in ground beef during storage is shown in table 1d. Results showed that at day 1, except for the ground beef treated with mustard EO, the EOs used did not affect the level of total coliform count. Mustard EO was able reduce by 0.8 log (CFU/g) the level of total coliform at day 1. The effect of irradiation treatment done under air or under MAP without EO reduced also the total coliform bellowing the level of detection (<10 CFU/g) until the end of the experiment. MAP alone reduced by 1 log the level of total coliform as compared to the samples packaged under air (6.28 vs 5.28 log (CFU/g)). The addition of oregano or cinnamon did not have significant effect on total coliform. However, the addition of mustard EO combined with MAP storage was able to control the total coliform growth during 14 days.

**Lactic Acid Bacteria (LAB):** The level of LAB population in ground beef are shown in table 1e. Results showed that at 1<sup>st</sup> day, the level of LAB was not affected by the presence of EO alone. Irradiation alone at 1.5kGy reduced by 5.73 log (CFU/g) the level of LAB. The effect of irradiation in presence of cinnamon or mustard EOs were the most effective treatments showing a level of LAB, below the detection level (<10 CFU/g). MAP alone reduced by 1 log (CFU/g) the level of LAB. When irradiation was done under MAP without EO, a 5.46 log (CFU/g) reduction was observed. The best combined treatment was the irradiation in presence of EO nevertheless the EO used and done under MAP condition. This combined treatment was able to reduce the level of LAB below the level of detection (<10 CFU/g) during the whole storage time.

***Pseudomonas*:** The level of *Pseudomonas* in ground beef during storage is shown in table 1f. Results showed that at day 1, the level of *Pseudomonas* was reduced by 1 log

(CFU/g) when mustard EO is added in ground beef. Irradiation alone was able to reduce by 4.39 log the level of *Pseudomonas*. The combined treatments of EO addition cinnamon, oregano, or mustard and irradiation reduced by 3.53, 4.85, and 6.08 log (CFU/g) respectively the level of *Pseudomonas*. MAP alone reduced by 1 log the level of *Pseudomonas* as compared to the samples packaged under air (6.38 log (CFU/g)). The combination of MAP and irradiation reduced by 6.54 log (CFU/g) the level of *Pseudomonas*. The addition of cinnamon and oregano to the ground beef stored under MAP did not have significant effect on the *Pseudomonas* level. However, the combination of EO addition, MAP condition storage and irradiation was able to reduce the *Pseudomonas* below the level of detection (<10 CFU/g) during 28 days.

EOs are known as antimicrobial agents that could be used to control food spoilage and foodborne pathogenic bacteria. Winther *et al.* (31) have observed that allyl isothiocyanate, a natural antimicrobial compound found in mustard oil, was effective against cheese related fungi, in both *in vitro* laboratory and cheese media tests. The presence of allyl isothiocyanate also extended the shelf life of cheese from 4 ½ to 28 weeks. Lemay *et al.* (20) have studied the effect of mustard EO against a mixed culture of *Escherichia coli* ATCC 25922, *Brochothrix thermosphacta* CRDAV452, and a protective culture of *Lactobacillus alimentarius* BJ33 (FloraCan L-2). When mustard EO was added to the nutrient media containing aerobic mesophilic bacteria or lactic acid bacteria, the level of these bacteria were significantly lower ( $P \leq 0.05$ ) as compared to the control after 2 days of storage. A concentration of 2  $\mu\text{mol/ml}$  from lemongrass, cinnamon, or geraniol was enough to inactivate *Salmonella enteritidis*, *E. coli*, and *L. innocua* in apple and pear juices (28) as compared to 0.5% in medium fat ground beef (23% fat) (25, 26).

De *et al.* (12) have screened some Indian spices for their antimicrobial activity. Of the spices surveyed, the results indicate that clove, cinnamon, bishop's weed, chilli, horse radish, cumin, tamarind, black cumin, pomegranate seeds, nutmeg, garlic, onion, tejpata, celery, cambodge, have potent antimicrobial activities against the organisms tested i.e. *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 10536) and *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763). The results also established the traditional use of spices as food preservatives, disinfectants and antiseptics. According to Penalver *et al.* (26), the EO who showed the highest antimicrobial activity against the four strains of *Salmonella* evaluated was *Origanum vulgare* (MIC  $\leq$  1% v/v), followed by *Thymus zygis* (MIC  $\leq$  2% v/v). Our study showed that mustard EO and Chinese cinnamon at a concentration 0.075 and 0.025% respectively had better antimicrobial activity than Spanish oregano (0.025%). By chemotyping, higher inhibitory capacity was observed in oils rich in phenolic components (ex: carvacrol and thymol) as compared with oils rich in monoterpene alcohol linalool. Oussalah *et al.* (25) have studied the effect of film application containing oregano, cinnamon, and winter savory in order to control the growth of the pathogenic bacteria on bologna and ham. Their results showed that *L. monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium level were completely eliminated and these bacteria were not detected during 5 days of storage. Karioti *et al.* (17) showed that oregano essential oil has antimicrobial activity and proved to be active against all microorganisms tested. Furthermore, their antioxidant potential activity was investigated and found to be significant in scavenging O<sub>2</sub>. Oussalah *et al.* (22) showed that the incorporation of essential oils (pimento, oregano) into milk protein-based edible film applied onto muscle meat helps to reduce microbial growth (*Pseudomonas spp* and *Escherichia coli*

O157:H7). Moreover, these treatments were able to protect the meat against fat oxidation during 7 days of storage.

The combination of EO, MAP, and irradiation can be used to maintain the safety of fresh minimally processed ground beef. Irradiation can inhibit foodborne pathogens and subsequently extend the shelf life of ground beef. A complete inhibition of pathogenic bacteria was obtained with the treatment of low-dose radiation (1.5kGy) without EO. However, a combined treatment (irradiation with MAP) was necessary to reduce below the level of detection of total mesophilic bacteria. Bacteria counts indicated that the combination of irradiation and MAP played a role in bacteria radiosensitization, producing a synergistic antimicrobial effect on the growth of bacteria in ground beef during storage. The mustard EO was the EO showing the best efficiency to reduce the bacteria growth during the storage. A synergetic effect was observed when meat was stored under MAP. The addition of EOs alone did not have an antimicrobial effect against all bacteria tested and may promote microbial growth during storage. In this study, the addition of mustard EO, MAP packaging and storage condition was able to reduce significantly the level of TMA, *E. coli*, total coliform, LAB, *Pseudomonas* and eliminate completely *Salmonella*. Chiasson *et al.* (9) have studied the effect of the bacterial radiosensitivity of *E. coli* and *S. Typhi* on ground beef. They observed the most efficient bacterial radiosensitivity especially for *S. Typhi* when stored in presence of high concentration of oxygen as compared to vacuum, 100% CO<sub>2</sub>, or air. The high presence of oxygen during the irradiation treatment might be expected to enhance the lethal effect of radiation because of the formation of oxygen radicals and ozone during treatment. Another technical antimicrobial that is widely used as a food preservative in some

countries is carbon dioxide (13). When added into a food pack, it dissolves and equilibrates within the food to form bicarbonate anion and other chemical species, according to the partial pressure of the gas, its relative volume and the pH and buffering capacity of the food. The efficacy of carbon dioxide results from a number of unrelated phenomena. The elimination of oxygen that is often achieved in modified atmosphere packs alters the spoilage flora generally by preventing the growth of strict aerobes and slowing the growth of facultative anaerobes through restriction of the amount of energy. However, carbon dioxide has a strong specific antimicrobial action itself that is very specific to some microorganisms. For example, many oxidative Gram-negative bacteria such as species of *Pseudomonas* are sensitive to carbon dioxide concentrations as low as 5%, while many lactic acid bacteria and yeasts are capable to growth in the presence of 100% of carbon dioxide and even in carbon dioxide under pressure (11). Carbon dioxide-enriched package for foods such as fresh meats therefore generally results in a shift of the spoilage flora from a rapidly growing Gram-negative one to a slower growing Gram-positive association of strains (11). In modified atmosphere-packaged of fresh fish, in contrast, the Gram-negative *Photobacterium phosphoreum* is tolerant to carbon dioxide and may therefore be selected as the dominant spoilage organism (10). The presence of oxygen in the modified atmosphere increases the radiosensitivity of bacteria due to the formation of free radicals (8, 30). However, Grant *et al.* (14) found that the combination of a CO<sub>2</sub> atmosphere and irradiation increased the resistance of *Salmonella* Typhimurium, *Yersinia enterocolitica*, and *Listeria monocytogenes*. Roberts and Weese (29) found that the combination of irradiation at 7 kGy and vacuum packaging increased the shelf life of ground beef from 7 days to more than 42 days. Prakash *et al.* (27)

observed that modified atmosphere packaging is widely used for fresh-cut produce spurred in part by advances in packaging material. Caillet *et al.* (7) showed that the irradiation treatment can inhibit foodborne pathogens and subsequently extend the shelf life of peeled minicarrots when irradiated in presence of EO. A complete inhibition of *Listeria innocua* was obtained with the combination of low-dose radiation (0.5 kGy) and modified atmosphere packaging containing 60% of oxygen with or without EO. *L. innocua* counts indicated that the combination of irradiation and MAP played a role in bacterial radiosensitization, producing a synergistic antimicrobial effect on the growth of bacteria in peeled minicarrots during storage. High CO<sub>2</sub> levels and low O<sub>2</sub> levels are also highly effective in delaying spoilage but have a minimal effect on pathogen such as *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, or *Aeromonas hydrophila* (4, 5, 6). Furthermore, although the incidence of the presence of *Clostridium botulinum* spore is low (0.36%) in one study of 1118 MAP samples (20), the low oxygen conditions may allow toxin formation (19). However, toxins are usually founded in samples considered spoiled but is infrequently detected in a sample that would be otherwise considered edible (3).

In conclusion, the results presented in this study indicate that irradiation was able to inhibit totally the presence of *E. coli* and *Salmonella* in medium fat ground beef during 28 days of storage. The  $\gamma$ -irradiation (1.5 kGy) in presence of mustard EO (0.075%) and packaged under MAP was the only one treatment able to eliminate the presence of TMA. Also the combined treatments irradiation, MAP and the addition of EOs where the only combined treatments able to eliminate LAB during the whole storage, nevertheless the EO used. During 28 days of storage the used of EO in combined treatments with

irradiation and MAP seen to be efficient to extend the shelf life and to assure the innocuity of medium fat ground beef during storage.

### **ACKNOWLEDGMENTS**

This research was supported by the Natural Sciences and Engineering research council of Canada (NSERC) through the RDC proGram and by a research contract under a research agreement with MDS NORDION (OTTAWA, Ontario, Canada). The authors thank Winpak (Winnipeg, MB, Canada) for providing the meat packaging material.

## REFERENCES

1. Ahmed, M. 1993. Up-to-date status of food irradiation. *Rad. Phys. Chem.* 42 : 245-251.
2. Anon (1994) Food-borne pathogens, risk and consequences. Council for Agricultural Science and Technology. Task Force *Report No. 122*, Ames, IA., USA.
3. Austin, J. W., K. L. Dodds, B. Blanchfield, and J. M. Farber. 1998. Growth and toxin production by *Clostridium botuliniumi* on the inoculated fresh-cut packaged vegetables. *J. Food Prot.* 61:324-328
4. Barakat, R. K., and L. J. Harris. 1999. Growth of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* on cooked modified-atmosphere-packaged poultry in the presence and absence of a naturally occurring microbiota. *Appl. Environ. Microbiol.* 65 :342-345
5. Berrang, M. E., R. E. Brackett, and L. R. Beuchat. 1989. Growth of *Listeria monocytogenes* on fresh vegetables stored under controlled atmosphere. *J. Food Prot.* 52 : 702-705



6. Berrang, M. E., R. E. Brackett, and L. R. Beuchat. 1989. Growth of *Aeromonas hydrophila* on fresh vegetables stored under a controlled atmosphere. *Appl. Environ Microbiol.* 55: 2167-2171
7. Caillet, S., M. Millette, S. Salmieri., and M. Lacroix. 2006. Combined effects of antimicrobial coating, modified atmosphere packaging, and gamma irradiation on *Listeria innocua* present in ready-to-use carrots (*Daucus carota*). *J. Food Prot.* 69 : 80-85
8. Chiasson, F., J. Borsa, B. Ouattara, and M. Lacroix. 2004. Radiosensitization of *Escherichia coli* and *Salmonella Typhi* in ground beef. *J. Food Prot.* 67 : 1157–1162.
9. Chiasson, F., J. Borsa, B. Ouattara, and M. Lacroix. 2005. Combined effect of and packaging conditions on radiosensitivity of *Escherichia coli* and *Salmonella Typhi* in ground beef. *J. Food Prot.* 68 : 2567-70.
10. Dalgaard, P., L. Gram, and H.H. Huss. 1993. Spoilage and shelf life of cod fillets packed in vacuum or modified atmospheres. *Int. J. Food Microbiol.* 19: 283-294.
11. Davies, A.P. 1995. Advances in modified atmosphere packaging. In: G. W. Gould (ed.), *New Methods of Food Preservation*. Blackie. Glasgow, pp. 304-20.
12. De, M., K. De, and A. B Banerjee 1999. Antimicrobial screening of some Indian spices. *Phytother. Res.* 13 : 616-8

13. Farber, J. M. 1991 Microbiological aspects of modified atmosphere packaging technology. A review. *J. Food Prot.* 54 : 58-70.
14. Grant, I. R., and M. F. Patterson. 1991. Effect of irradiation and modified atmosphere packaging on the microbiological safety of minced pork stored under temperature abuse conditions. *Int. J. Food Sci. Technol.* 26 : 521–533.
15. Hudson, W.R., G. C. Mead, and M.H. Hinton. 1996. Relevance of abattoir hygiene assessment to microbial contamination of British beef carcasses. *Vet. Rech.* 139 : 587-589
16. International Consultative Group on Food Irradiation. 1999. Facts about food irradiation. *A series of fact sheets from the international consultative group on food irradiation.* FAO/IAEA
17. Karioti, A., T. Vrahimi-Hadjilouca, D. Droushiotis, A. Rancic, D. Hadjipavlou-Litina, and H. Skaltsa. 2006. Analysis of the essential oil of *Origanum dubium* growing wild in Cyprus. Investigation of its antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Planta Med.* 72 : 1330-4
18. Komolprasert, V, and M. Kim. 2004. Irradiation of food packaging: an Overview. Morehouse. (ed). *Irradiation and packaging, Recent Developments.* Series 875 pp.1-9

19. Larson, A. E., E. A. Johnson, C. R. Barmore, and M. D. Hughes. 1997. Evaluation of the botulism hazard from vegetables in modified atmosphere packaging. *J. Food Prot.* 60 : 1208-1214
20. Lemay, M. J., J. Choquette, P. J. Delaquis, G. Claude, N. Rodrigue, and L. Saucier. 2002. Antimicrobial effect of natural preservatives in cooked and acidified chicken meat model. *Int. J. Food Microbiol.* 78 : 217-26
21. Lilly, T., H. M. Solomon, and E. J. Rhodehamel. 1995. Incidence of *Clostridium botulinum* in vegetables packaged under vacuum or modified atmosphere *J. Food Prot.* 59 :59-61.
22. Oussalah, M., S. Caillet, S. Salmieri, L. Saucier, and M. Lacroix. 2004. Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. *J. Agric. Food. Chem.* 52: 5598-05.
23. Oussalah, M., S. Caillet, L. Saucier, and M. Lacroix. 2005. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *J. Food Control.* 18: 414-420.
24. Oussalah, M., S. Caillet, L. Saucier, and M. Lacroix. 2006. Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated

from meat. *Meat Science*. 73: 236-244.

25. Oussalah, M., S. Caillet, S. Salmieri, L. Saucier, and M. Lacroix. 2007. Antimicrobial effects of alginate-based films containing essential oils on *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium present in bologna and ham. *J. Food-Prot.* 70 : 901-908.
26. Penalver, P., B. Huerta, C. Borge, R. Astorga, R. Romero, and A. Perea. 2005. Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the *Enterobacteriaceae* family. *APMIS*. 113 : 1-6
27. Prakash, A., and D. Foley. 2004. Improving safety and extending shelf life of fresh-cut fruits and vegetables using irradiation. In V. Komolprasert and K. M Morehouse (ed.), *Irradiation of food and packaging, Recent Developments*. 90-105
28. Raybaudi-Massilia, R.M., J. Mosqueda-Melgar, and O. Martin-Belloso. 2006. Antimicrobial activity of essential oils on *Salmonella enteridis*, *Escherichia coli*, and *Listeria innocua* in fruit juices. *J. Food Prot.* 69: 1579-86
29. Roberts, W. T., and J. O. Weese. 1998. Shelf life of ground beef patties treated by gamma radiation. *J. Food Prot.* 61 : 1387–1389.

30. Thakur, B. R., and R. K. Singh. 1994. Food irradiation—chemistry and applications.

*Food. Rev. Int.* 10 : 437–473.

31. Winther, M., and P. V. Nielsen. 2006. Active packaging of cheese with allyl

isothiocyanate, an alternative to modified atmosphere packaging. *J. Food Prot.* 69 :

2430-5

TABLE 1a. Evaluation of the total mesophilic aerobic bacterial population in medium ground beef stored under air or MAP with or without irradiation treatment at 1.5kGy in presence of antimicrobial compounds (cinnamon EO 0.025%, oregano EO 0.025%, or mustard EO 0.075%), during 28 days.

Total mesophilic aerobic*	AIR							
	Day	1	3	7	14	21	28	
0kGy Control		7.32±0.09 g, A <sup>a</sup>	>10 <sup>7</sup> e, B	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B	
1.5kGy Control		2.57±0.12 b, A	3.46±0.26 c, AB	4.26±0.13 c, B	>10 <sup>7</sup> b, C	>10 <sup>7</sup> b, C	>10 <sup>7</sup> b, C	
0kGy Chinese cinnamon EO 0.025%		7.51±0.04 h, A	>10 <sup>7</sup> e, B	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B	
1.5kGy Chinese cinnamon EO 0.025%		3.41±0.18 d, B	2.13±0.18 b, A	5.60±0.16 e, C	>10 <sup>7</sup> b, D	>10 <sup>7</sup> b, D	>10 <sup>7</sup> b, D	
0kGy Spanish oregano EO 0.025%		7.51±0.065 gh, B	6.98±0.25 d, A	>10 <sup>7</sup> f, C	>10 <sup>7</sup> b, C	>10 <sup>7</sup> b, C	>10 <sup>7</sup> b, C	
1.5kGy Spanish oregano EO 0.025%		3.08±0.20 c, A	3.18±0.23 c, A	4.93±0.1 d, B	>10 <sup>7</sup> b, C	>10 <sup>7</sup> b, C	>10 <sup>7</sup> b, C	
0kGy Mustard EO 0.075%		7.35±0.12 g, A	>10 <sup>7</sup> e, A	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B	
1.5kGy Mustard EO 0.075%		2.60±0.23 b, A	2.36±0.21 b, A	3.81±0.17 b, B	>10 <sup>7</sup> b, C	>10 <sup>7</sup> b, C	>10 <sup>7</sup> b, C	
		MAP						
	Day	1	3	7	14	21	28	
0 kGy Control		6.25±0.11 e, A	>10 <sup>7</sup> e, B	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B	
1.5 kGy Control		<10 a, A	<10 a, A	0.59±0.92 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	
0 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%		6.38±0.13 e, A	>10 <sup>7</sup> e, B	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B	
1.5 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%		<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	
0 kGy Spanish oregano EO 0.025%		6.29±0.09 e, A	>10 <sup>7</sup> e, B	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B	
1.5 kGy Spanish oregano EO 0.025%		2.68±0.39 b, A	<10 a, B	<10 a, B	<10 a, B	<10 a, B	<10 a, B	
0 kGy Mustard EO 0.075%		5.63±0.08 e, A	7.12±0.13 d, B	>10 <sup>7</sup> f, C	>10 <sup>7</sup> b, C	>10 <sup>7</sup> b, C	>10 <sup>7</sup> b, C	
1.5 kGy Mustard EO 0.075%		<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	

\* Within each treatment and each column, means with the same lowercase letter are not significantly different ( $P > 0.05$ ). Within each row, means bearing the same capital letter are not significantly different ( $P > 0.05$ ).

TABLE 1b. Evaluation of the *Escherichia coli* population in medium ground beef stored under air or MAP with or without irradiation treatment at 1.5 kGy in presence of antimicrobial compounds (cinnamon EO 0.025%, oregano EO 0.025%, or mustard EO 0.075%), during 28 days.

Escherichia coli*	AIR						
	Day	1	3	7	14	21	28
0 kGy Control		5.68±0.23 de, A	>10 <sup>7</sup> h, B	>10 <sup>7</sup> e, B	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B
1.5 kGy Control		<10 a, A	2.08±0.08 b, B	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A
0 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%		5.82±0.08 e, A	>10 <sup>7</sup> h, B	>10 <sup>7</sup> e, B	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B
1.5 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%		<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A
0 kGy Spanish oregano EO 0.025%		6.10±0.2 f, A	>10 <sup>7</sup> h, B	>10 <sup>7</sup> e, B	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B
1.5 kGy Spanish oregano EO 0.025%		<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A
0 kGy Mustard EO 0.075%		4.87±0.12 c, C	4.68±0.15 d, BC	4.45±0.27 c, AB	4.20±0.20 c, A	>10 <sup>7</sup> b, D	>10 <sup>7</sup> b, D
1.5 kGy Mustard EO 0.075%		<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A
MAP							
Day	1	3	7	14	21	28	
0 kGy Control		5.01±0.11 c, A	6.10±0.04 f, 2, B	>10 <sup>7</sup> e, D	6.81±0.17 e, C	>10 <sup>7</sup> b, D	>10 <sup>7</sup> b, D
1.5 kGy Control		<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A
0 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%		6.17±0.17 f, D	5.86±0.08 e, C	4.68±0.21 c, B	4.28±0.24 c, A	>10 <sup>7</sup> b, E	>10 <sup>7</sup> b, E
1.5 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%		<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A
0 kGy Spanish oregano EO 0.025%		5.55±0.12 d, A	6.43±0.11 g, C	6.11±0.27 d, B	6.17±0.13 d, B	>10 <sup>7</sup> b, D	>10 <sup>7</sup> b, D
1.5 kGy Spanish oregano EO 0.025%		<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A
0 kGy Mustard EO 0.075%		3.98±0.13 b, B	3.99±0.21 c, B	3.58±0.10 b, A	3.72±0.28 b, A	>10 <sup>7</sup> b, C	>10 <sup>7</sup> b, C
1.5 kGy Mustard EO 0.075%		<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A

\* Within each treatment and each column, means with the same lowercase letter are not significantly different ( $P > 0.05$ ). Within each row, means bearing the same capital letter are not significantly different ( $P > 0.05$ ).

TABLE 1c. Evaluation of the *Salmonella* population in medium ground beef stored under air or MAP with or without irradiation treatment at 1.5kGy in presence of antimicrobial compounds (cinnamon EO 0.025%, oregano EO 0.025%, or mustard EO 0.075%), during 28 days.

Salmonella*	AIR						
	1	3	7	14	21	28	
0 kGy Control	3.59±0.09 d, C	3.38±0.09 d, B	3.92±0.05 f, D	3.27±0.10 e, A	>10 <sup>7</sup> b, E	>10 <sup>7</sup> b, E	
1.5 kGy Control	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	
0 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%	0.66±0.61 b, A	0.63±0.99 ab, A	2.27±0.29 cd, A	4.08±0.37 f, C	>10 <sup>7</sup> b, D	>10 <sup>7</sup> b, D	
1.5 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	
0 kGy Spanish oregano EO 0.025%	1.48±0.14 c, A	3.06±0.03 d, C	1.81±0.44 c, B	3.19±0.17 e, C	>10 <sup>7</sup> b, D	>10 <sup>7</sup> b, D	
1.5 kGy Spanish oregano EO 0.025%	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	
0 kGy Mustard EO 0.075%	0.33±0.52 ab, A	0.74±0.61 ab, A	0.33±0.51 ab, A	0.17±0.41 a, A	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B	
1.5 kGy Mustard EO 0.075%	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	
MAP							
Day	1	3	7	14	21	28	
0 kGy Control	1.87±0.18 c, A	3.26±0.15 d, C	2.88±0.13 e, B	2.80±0.22 d, B	>10 <sup>7</sup> b, D	>10 <sup>7</sup> b, D	
1.5 kGy Control	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	
0 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%	0.50±0.55 ab, A	1.94±0.10 c, C	0.68±0.75 b, AB	1.21±0.24 b, B	>10 <sup>7</sup> b, D	>10 <sup>7</sup> b, D	
1.5 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	
0 kGy Spanish oregano EO 0.025%	0.60±0.55 b, A	2.31±0.03 c, B	2.62±0.22 de, B	2.39±0.16 c, B	>10 <sup>7</sup> b, C	>10 <sup>7</sup> b, C	
1.5 kGy Spanish oregano EO 0.025%	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	
0 kGy Mustard EO 0.075%	<10 a, A	0.38±0.6 ab, A	<10 a, A	<10 a, A	>10 <sup>7</sup> b, A	>10 <sup>7</sup> b, A	
1.5 kGy Mustard EO 0.075%	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	

\* Within each treatment and each column, means with the same lowercase letter are not significantly different ( $P > 0.05$ ). Within each row, means bearing the same capital letter are not significantly different ( $P > 0.05$ ).



TABLE 1d. Evaluation of the total coliform population in medium ground beef stored under air or MAP with or without irradiation treatment at 1.5kGy in presence of antimicrobial compounds (cinnamon EO 0.025%, oregano EO 0.025%, or mustard EO 0.075%), during 28 days.

		AIR					
Total coliform*		1	3	7	14	21	28
Day							
0 kGy Control		6.28±0.14 de, A*	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B
1.5 kGy Control		<10 a, A	2.00±0.082 b, B	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A
0 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%		6.34±0.09 e, A	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B
1.5 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%		<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A
0 kGy Spanish oregano EO 0.025%		6.63±0.10 f, A	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B
1.5 kGy Spanish oregano EO 0.025%		<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A
0 kGy Mustard EO 0.075%		5.45±0.06 c, B	5.94±0.21 c, C	5.17±0.04 c, B	4.36±0.13 c, A	>10 <sup>7</sup> b, C	>10 <sup>7</sup> b, C
1.5 kGy Mustard EO 0.075%		<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A
		MAP					
Day		1	3	7	14	21	28
0 kGy Control		5.28±0.07 c, A	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> f, B	>10 <sup>7</sup> b, B	>10 <sup>7</sup> b, B
1.5 kGy Control		<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A
0 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%		6.07±0.11 d, B	7.11±0.11 d, C	6.12±0.17 d, B	5.44±0.24 d, A	>10 <sup>7</sup> b, D	>10 <sup>7</sup> b, D
1.5 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%		<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A
0 kGy Spanish oregano EO 0.025%		6.44±0.17 ef, A	7.38±0.21 e, C	7.31±0.08 e, C	6.93±0.11 e, B	>10 <sup>7</sup> b, D	>10 <sup>7</sup> b, D
1.5 kGy Spanish oregano EO 0.025%		<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A
0 kGy Mustard EO 0.075%		4.42±0.14 b, C	6.21±0.28 c, D	4.86±0.14 b, C	3.70±0.16 b, A	7.03±0.07 b, E	>10 <sup>7</sup> b, F
1.5 kGy Mustard EO 0.075%		<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A	<10 a, A

\* Within each treatment and each column, means with the same lowercase letter are not significantly different ( $P > 0.05$ ). Within each row, means bearing the same capital letter are not significantly different ( $P > 0.05$ ).



TABLE 1f. Evaluation of the *Pseudomonas* in medium ground beef stored under air or MAP with or without irradiation treatment at 1.5kGy in presence of antimicrobial compounds (cinnamon EO 0.025%, oregano EO 0.025%, or mustard EO 0.075%), during 28 days.

<i>Pseudomonas</i> *	AIR						
	1	3	7	14	21	28	
0 kGy Control	7.31±0.14 f, A*					>10 <sup>7</sup> b, B	
1.5 kGy Control	2.92±0.34 c, C	3.13±0.15 c, C	2.61±0.08 c, B			<10 a, A	
0 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%	7.38±0.07 f, A		>10 <sup>7</sup> e, B			>10 <sup>7</sup> b, B	
1.5 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%	3.78±0.20 d, D	1.14±0.60 b, B	2.50±0.29 c, C			<10 a, A	
0 kGy Spanish oregano EO 0.025%	7.42±0.07 f, B	6.81±0.26 a, A	>10 <sup>7</sup> e, B			>10 <sup>7</sup> b, B	
1.5 kGy Spanish oregano EO 0.025%	2.46±0.65 c, C	1.39±0.24 b, B	1.81±0.31 b, C			<10 a, A	
0 kGy Mustard EO 0.075%	6.12±0.07 e, A		6.10±0.17 d, A	6.47±0.29 d, A		>10 <sup>7</sup> b, B	
1.5 kGy Mustard EO 0.075%	1.23±1.25 b, B	1.28±0.64 b, B				<10 a, A	
MAP							
Day	1	3	7	14	21	28	
0 kGy Control	6.38±0.17 e, A					>10 <sup>7</sup> b, B	
1.5 kGy Control	0.77±0.65 a, A		0.17±0.41 a, A	<10 a, A		<10 a, A	
0 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%	7.31±0.02 f, A					>10 <sup>7</sup> b, B	
1.5 kGy Chinese cinnamon EO 0.025%	<10 a, A		<10 a, A	<10 a, A		<10 a, A	
0 kGy Spanish oregano EO 0.025%	7.19±0.03 f, A					>10 <sup>7</sup> b, B	
1.5 kGy Spanish oregano EO 0.025%	1.72±0.87 b, B		<10 a, A	<10 a, A		<10 a, A	
0 kGy Mustard EO 0.075%	6.35±0.06 e, A					>10 <sup>7</sup> b, B	
1.5 kGy Mustard EO 0.075%	1.13±0.78 ab, B		<10 a, A	<10 a, A		<10 a, A	

\* Within each treatment and each column, means with the same lowercase letter are not significantly different ( $P > 0.05$ ). Within each row, means bearing the same capital letter are not significantly different ( $P > 0.05$ ).

## **Chapitre 5**

## **Discussion**

## 1. Effets de l'irradiation gamma en présence d'huiles essentielles dans le bœuf haché

Les bactéries à Gram positif sont généralement plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries à Gram négatif. Toutefois, selon Burt (2004), les huiles essentielles à de faibles concentrations (2 à 10µl/ml) ont une activité antimicrobienne contre les bactéries pathogènes de l'alimentation *in vivo* (ex : *Listeria monocytogenes*, *S. Typhimurium*, *E. coli* O157:H7, *Shigella dysenteria*, *Bacillus cereus* et *Staphylocoque aureus*), les composés phénoliques sont les plus actifs et agissent principalement au niveau de la perméabilisation membranaire. Chiasson *et al.* (2004) ont démontré que 1% de carvacrol augmente la sensibilité relative d'*E. coli* et de *S. Typhi* de 2.2 fois dans du bœuf haché en comparaison à des échantillons non traités. L'étude réalisée a démontrée clairement qu'il est possible de protéger le bœuf haché emballé sous air d'une contamination opportuniste. En effet, la contamination du bœuf haché par *E. coli* O157:H7 et *S. Typhi* peut être éliminée par radiosensibilisation en présence de sept composés antimicrobiens : la sarriette des montagnes, la moutarde, l'allyl isothiocyanate, la fumée liquide, le clou de girofle, et la cannelle de Chine. Par contre la *menthe pulegium* diminue significativement ( $p \leq 0.05$ ) la radiosensibilisation d'*E. coli*. Il est possible que la menthe pulegium contienne des composés qui protègent *E. coli* au cours de l'irradiation. En effet, selon Chiasson *et al.*, (2005) la présence de composés antioxydants dans les huiles ont l'effet de protéger les bactéries contre les stress engendrés par l'irradiation. En présence de *S. Typhi* les composés les plus radiosensibilisateurs sont l'origan d'Espagne, la cannelle de Chine, la moutarde et l'allyl isothiocyanate. L'*eucalyptus polybractea cineoliferum* (CT1), l'*eucalyptus polybractea cryptoniferum* (CT2), et le Tabasco diminue significativement ( $p \leq 0.05$ ) la radiosensibilisation de *S. Typhi*. Ces composés protègent les bactéries de l'irradiation

gamma. Les composés majoritaires des huiles essentielles peuvent constituer plus de 85% des composés présents dans les huiles essentielles mais beaucoup d'autres molécules sont détectées à l'état de trace (Cosentino *et al.*, 1999). Quand les composés majoritaires des huiles essentielles ont été testés comme celui de l'eugénol qui représente 75% des composés totaux du clou de girofle, la radiosensibilité de l'eugenol seul était plus faible qu'en présence d'huile essentielle de clou de girofle. Cette observation suggère que les constituants minoritaires ont un important effet sur le pouvoir radiosensibilisateur des huiles essentielles. Stammen *et al.*, (1990) ont observé les mêmes résultats de radiosensibilisation sur des bactéries avec l'allyl isothiocyanate, le composé majoritaire de l'huile essentielle de moutarde. Les résultats présentés dans cette étude montrent que sans huile essentielle la dose d'irradiation pour éliminer *E. coli* est plus faible que la dose d'irradiation pour éliminer *S. Typhi* donc *S. Typhi* est plus résistante à l'irradiation gamma qu'*E. coli*. Chiasson *et al.*, (2004) ont obtenu des résultats similaires. Les traitements combinant les huiles essentielles ou leurs composés majoritaires et l'irradiation gamma ont un effet synergétique sur la sensibilité relative d'*E. coli* et *S. Typhi* dans le bœuf haché. Les rayons ionisants initialisent des séries d'événements qui causeront des troubles de fonctions structurales ou du métabolisme. De plus, le fractionnement de l'ADN empêche la réplication microbienne et la synthèse de protéines ce qui mène à la mort bactérienne (Rocelle *et al.*, 1994). Les composés phénoliques sont responsables de la dissolution de la membrane bactérienne, donc ils traversent cette barrière et ils ont accès directement au cytosol où ils peuvent perturber le métabolisme de la cellule. La comparaison de plusieurs huiles essentielles de sauge a permis de démontrer la variation de l'activité antimicrobienne et l'effet synergétique entre des composants majeurs et mineurs des huiles essentielles (Marino

*et al.*, 2001). Il est possible que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles ne soit pas causée par un seul mode d'action. Les constituants peuvent interrompre beaucoup de cibles dans la cellule, comme la force protonique ou l'huile essentielle peut augmenter la perméabilité membranaire et provoquer la coagulation des constituants de la cellule (Burt, 2004, Carson *et al.*, 2002, Skandamis *et al.*, 2001). Caillet *et al.*, (2005) ont étudié les effets de l'origan d'Espagne et de l'irradiation sur la concentration intra et extra cellulaire de l'ATP. L'addition d'huiles essentielles d'origan d'Espagne sur *Listeria monocytogenes* a entraîné une diminution significative ( $P \leq 0.05$ ) de la concentration de ATP intracellulaire. La concentration de l'ATP intracellulaire a diminué de 6,26 à 0,36 ng/ml par l'addition de 0,013% (vol/vol) d'huile essentielle d'origan d'Espagne. Une augmentation de la concentration d'huile essentielle d'origan d'Espagne a un effet significatif ( $P \leq 0,05$ ) au niveau de l'ATP extracellulaire. Une augmentation de l'ATP extracellulaire de 0,03 ng/ml pour le contrôle à 0,22 ng/ml pour la concentration d'ATP extracellulaire a été observée en présence de 0,05% (vol/vol) l'huile essentielle d'origan d'Espagne. Les résultats montrent que la combinaison de traitements induit une importante diminution de la composition du haut poids moléculaire du peptidoglycane, et les photos des bactéries au microscope à transmission montrent une augmentation de perméabilité membranaire.

Les résultats présentés dans le premier article indiquent qu'une augmentation de la radiosensibilité d'*E. coli* et *S. Typhi* dans le bœuf haché est possible avec l'addition d'huiles essentielles ou de leurs composés majoritaires avec un emballage sous air. La cannelle de Chine et la sarriette des montagnes sont les composés qui ont le meilleur effet radiosensibilisateur pour *E. coli* et *S. Typhi*. L'huile essentielle de *menthe pulegium* semble protéger *E. coli* et *S. Typhi* de l'irradiation gamma. Les conditions sous atmosphère



modifiée ont un effet synergétique avec le traitement d'irradiation en présence d'huiles essentielles et augmente significativement ( $P \leq 0.05$ ) la radiosensibilité des deux bactéries. Cependant *S. Typhi* est plus sensible qu'*E. coli* sous atmosphère modifiée. La présence d'huile essentielle de cannelle de Chine et l'entreposage sous atmosphère modifiée affecte moins *E. coli* pendant le traitement d'irradiation mais affecte *S. Typhi*. Toutefois, les huiles essentielles d'origan d'Espagne et de moutarde ont un bon pouvoir radiosensibilisateur pour les deux bactéries avec un emballage sous air et sous atmosphère modifiée.

## **2. Effet des huiles essentielles sur la qualité organoleptique du bœuf haché**

Plusieurs huiles essentielles ont, en laboratoire, une activité antimicrobienne démontrée. Mais avant leur adoption en tant qu'agent de conservation alimentaire, il convient de vérifier les résultats expérimentaux dans l'aliment sélectionné. Les résultats expérimentaux obtenus en milieu modèle se confirment dans le bœuf haché, mais à des concentrations d'huiles essentielles un peu plus élevées. Les études montrent que les huiles essentielles peuvent être ajoutées à presque tous les aliments. Ainsi, les huiles essentielles d'origan, de thym, de cannelle ou de coriandre sont efficaces pour les viandes, les volailles, les charcuteries et les légumes. Selon Chiasson *et al.*, (2005) et Ouattara *et al.*, (2001) l'huile essentielle de menthe est efficace pour les produits frais (salade, yogourts), les huiles essentielles à base de carvacrol ou de citral sont efficaces pour les poissons, les huiles essentielles à base de thym, de noix de muscade ou de gingembre sont efficaces pour les céréales (plus particulièrement celles riches en carvacrol pour le riz), et les huiles essentielles à base de carvacrol ou de cinnamaldéhyde sont efficaces pour les fruits. Toutefois, quelques limites existent à l'utilisation des huiles essentielles comme agents de conservation dans les aliments, notamment le pouvoir aromatisant de certaines d'entre elles. Cependant, des techniques de désaromatisation existent et sont de plus en plus efficaces. D'autre part, les effets organoleptiques indésirables peuvent être limités en sélectionnant soigneusement l'huile essentielle et le type d'aliment considéré, mais il est important de noter que, dans la plupart des cas, les concentrations d'huiles utilisées sont si faibles qu'elles ne modifient pas les qualités organoleptiques de l'aliment. Il importe aussi de vérifier que l'huile essentielle sélectionnée n'a pas d'effet antimicrobien contre les bactéries

utiles, notamment les ferments d'acidification, d'aromatisation et d'affinage, indispensable à la fabrication des produits. Moyennant ces précautions d'usage, l'emploi des huiles essentielles pour la transformation des aliments peut présenter un triple intérêt : aromatisant, antioxydant et antimicrobien.

Les résultats obtenus montrent que l'ajout de moutarde à 0.075%, de cannelle à 0.025% et d'origan à 0.025% n'affecte pas les qualités sensorielles du bœuf haché de manière significative ( $P > 0.05$ ). En revanche, pour des concentrations plus élevées il y avait une diminution significative ( $P \leq 0.05$ ) du taux d'appréciation qui a été rapportée par le jury. À partir de ces résultats, les tests de durée de vie de la viande hachée ont été réalisés en utilisant les concentrations maximales qui n'affectaient pas le goût de la viande.

**3. Durée de vie du bœuf haché en présence de sa microflore avec un emballage sous air ou sous atmosphère modifiée combinée à l'irradiation et à la présence d'huiles essentielles aux concentrations qui n'affectent pas le goût.**

La combinaison d'huile essentielle, de l'atmosphère modifiée, et de l'irradiation peut être utilisée pour maintenir la sécurité de la viande de bœuf haché fraîche avec un minimum de procédé. Une complète inhibition des bactéries pathogènes a été obtenue avec la combinaison d'une faible dose d'irradiation (1.5 kGy) et le MAP avec ou sans huile essentielle. Les comptes bactériens indiquent que la combinaison de l'irradiation et du MAP joue un rôle dans la radiosensibilisation, et produit un effet antimicrobien synergique sur la croissance des bactéries durant l'entreposage. Cependant, l'huile essentielle de moutarde est nécessaire pour réduire la croissance des bactéries quand le bœuf haché est emballé sous air. Sous MAP, l'ajout d'huile essentielle n'est pas nécessaire pour inhiber la croissance des bactéries. Les huiles essentielles n'ont pas un pouvoir antimicrobien contre toutes les bactéries mais permettent de stabiliser la croissance des bactéries pendant la durée de l'entreposage. Chiasson *et al.* (2005) ont étudié l'effet de la radiosensibilisation de *S. Typhi* et *Escherichia coli* dans le bœuf haché en fonction des conditions d'emballage. Ils ont observé la meilleure radiosensibilité bactérienne en présence de haute concentration en oxygène plutôt qu'avec un emballage sous vide, 100% CO<sub>2</sub> ou sous air. Une forte concentration en oxygène pendant le traitement d'irradiation améliore l'effet létal des rayonnements grâce à la formation de radicaux libres et d'ozone pendant le traitement. Cependant, Grant et Patterson (1991) ont trouvé que la combinaison irradiation et un emballage avec le CO<sub>2</sub> comme atmosphère augmente la résistance de *Salmonella* Typhimurium, *Yersinia enterocolitica*, et *Listeria monocytogenes*. Robert et Weese (1998) ont

trouvé que la combinaison irradiation à 7 kGy et emballage sous vide, augmente la durée de vie du bœuf haché de 7 jours à 42 jours. Anuradha et Foley (2004) ont observé que les emballages sous atmosphère modifiée sont très utilisés pour les aliments fraîchement coupés. Une haute concentration en CO<sub>2</sub> et une faible concentration en O<sub>2</sub> permettent de retarder le vieillissement des aliments mais ils n'ont aucun effet contre les bactéries pathogènes comme *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, ou *Aeromonas hydrophila*. (Berrang *et al.*, 1989 a et b, Barakat et Harris, 1999). De plus, la présence en spores de *Clostridium botulinum* est basse (0.36% pour une étude de 1118 échantillons emballés sous atmosphère modifiée). Une faible présence d'oxygène pourrait occasionner la formation de toxines (Larson *et al.*, 1997). Cependant, les toxines sont généralement trouvées dans les échantillons considérés contaminés mais elles sont rarement détectées dans un échantillon qui est considéré comme comestible.

Les huiles essentielles sont connues comme des agents antimicrobiens et pourraient être utilisées dans la nourriture pour contrôler les infections alimentaires causées par les bactéries pathogène. Winther et Nielson (2006) ont observé que l'allyl isothiocyanate, le composé naturel majoritaire trouvé dans l'huile essentielle de moutarde, est très efficace contre les mycètes présents dans les milieux de culture de laboratoire et dans le fromage. La présence d'allyl isothiocyanate a aussi permis d'augmenter la durée de vie du fromage de 4 semaines et demie à 28 semaines. Lemay *et al.*, (2002) a étudié l'effet de l'huile essentielle de moutarde contre un mélange de culture bactérienne, d'*Escherichia coli* ATCC 25922, *Brochothrix thermosphacta* CRDAV452, et une culture protectrice de *Lactobacillus alimentarius* BJ33 (FloraCan L-2). Quand l'huile essentielle de moutarde a été ajoutée dans

le milieu de culture contenant les bactéries mésophiles aérobies ou les bactéries lactiques, la concentration en bactéries était significativement plus basse ( $P \leq 0,05$ ) en comparaison avec le contrôle après 2 jours de stockage. Raybaudi Massilia *et al.*, (2006) ont montré qu'une concentration de 2  $\mu\text{m/ml}$  de *Cymbopogon citratus*, de cannelle, ou de géranjol était suffisante pour inactiver *Salmonella Enteritidis*, *E. coli*, et *L. innocua* dans les jus de pomme et de poire. De *et al.*, (1999) ont trié quelques épices indiennes en fonction de leur activité antimicrobienne. Parmi les épices examinées, les résultats indiquent que le clou de girofle, la cannelle, le bishop's, le chili, le cumin, le tamarin, le cumin noir, les semences de grenade, la muscade, l'ail, l'oignon et le céleri ont des activités antimicrobiennes puissantes contre les organismes testés c'est-à-dire *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 10536) et *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763). Les résultats ont confirmé l'usage traditionnel des épices comme agents préservateurs des aliments, désinfectants et antiseptiques. Selon l'équipe de Penalver (Penalver *et al.*, 2005), les huiles essentielles montrent une forte activité antimicrobienne contre quatre souches de *Salmonella*. Les huiles essentielles testées étaient l'origan *vulgaire* (MIC 1% v/v) et le Thymus de *zygis* (MIC 2% v/v), et également le Thymus *mastichina* qui inhibe toutes les bactéries testées mais avec cette fois une forte concentration d'huiles CMI (4% v/v). La forte capacité d'inhibition des bactéries a été observée plutôt dans les huiles essentielles riches en composés phénoliques (ex : carvacrol et thymol) que dans les huiles essentielles riche en monoterpènes, alcools et linalool. Oussalah *et al.*, (2006) ont étudié l'effet des films d'enrobage contenant de l'origan, de la cannelle et de la sarriette des montagnes, contre des bactéries pathogènes présentes dans du jambon et de la bologne. Les résultats montrent que *Listeria monocytogenes* et *Salmonella Typhimurium* sont complètement éliminées pendant

une période d'entreposage de 5 jours. Oussalah *et al.*, (2004) ont montré que l'incorporation d'huiles essentielles de piment, et d'origan dans des films comestibles à base de protéines de lait, appliquées sur de la viande réduisent le chargement microbien (*Pseudomonas spp* et *Escherichia coli* O157:H7). De plus, ces traitements peuvent protéger la viande contre l'oxydation, pendant une durée de 7 jours d'entreposage.

L'irradiation de la nourriture peut être aussi utilisée pour inhiber la croissance des bactéries et les éliminer. Selon Bandisting (2004), un saucisson fermenté de porc (*nahm*) et les autres types de saucissons sont souvent contaminés avec des *Salmonelles*. La recherche menée au Bureau de l'Energie Atomique pour la Paix (OAEP) a indiqué qu'une dose de rayonnements de 2 kGy peut décontaminer le *Nahm* de la *Salmonelle*. Les saucissons vietnamiens (*Mu yaw*) grâce à une dose d'irradiation de 2kGy peuvent être conservés pendant plus de 20 jours à 2°C. Les mêmes auteurs ont irradié des crevettes congelées à une dose de 3kGy. Les résultats de l'étude ont montré que 98% des acheteurs étaient satisfaits de la qualité des crevettes congelées irradiées. Caillet *et al.*, (2006) ont montré que le traitement d'irradiation peut éliminer les pathogènes des aliments et étendre par la suite la durée de vie des mini carottes pelées, quand elles sont irradiées en présence d'huiles essentielles. Une inhibition complète de *Listeria innocua* a été obtenue avec la combinaison de rayonnement de faible dose (0,5 kGy) et un emballage sous atmosphère modifiée avec ou sans huile essentielle. Les comptes de *L. innocua* ont montré que la combinaison d'irradiation et d'atmosphère modifiée joue un rôle dans radiosensitisation bactérienne, produisant ainsi un effet antimicrobien synergique sur la croissance de bactéries dans les mini carottes pelées pendant l'entreposage.

## **Conclusion**



Le bœuf haché a une durée de vie très limitée de trois jours qui est causée lors de sa préparation. Les contaminations ont lieu à plusieurs stades, lors du découpage de la viande et une forte partie de la contamination est causée par le hachage de la viande. La viande hachée est la viande qui est le plus en contact avec des ustensiles de découpage, ce qui engendre donc de fortes contaminations par rapport aux autres viandes. Il y a également des contaminations avec les personnes qui manipulent la viande pour sa préparation.

Cette contamination engendre deux problèmes principaux, d'un côté le problème de la détérioration du bœuf haché engendrant des pertes en denrées alimentaires au moment même où certains pays du tiers monde souffrent d'insuffisance alimentaire, et de l'autre côté le problème du danger d'infection alimentaire qui peut survenir si toutes les précautions de stockage à froid et de cuisson à des températures adéquates ne sont pas respectées.

Satisfaire les besoins des consommateurs exige deux notions qui se modifient régulièrement avec les habitudes. La première est celle de satisfaire leurs goûts qui se modifient constamment avec les habitudes. La seconde est celle de leur présenter un produit frais, et qui, de plus, doit être indemne de germes pathogènes pouvant nuire à sa santé.

Cette étude nous a permis d'évaluer le procédé d'irradiation appliqué au bœuf haché frais pour mieux satisfaire ces exigences. L'irradiation est un procédé qui, à notre avis, dispose d'un avenir prometteur. Les conditions expérimentales utilisées dans cette étude ont donné des résultats qui démontrent que l'irradiation est capable d'inhiber totalement la présence d'*E. coli* and *Salmonella* du bœuf haché pendant une période de 28 jours de stockage. L'irradiation gamma à une dose aussi faible que 1.5 kGy en présence d'huile essentielle de moutarde (0.075%), une concentration qui n'affecte pas le goût de la viande,

et avec un emballage sous atmosphère modifiée, est la seule combinaison de traitement qui est capable d'éliminer la flore totale aérobie mésophile du bœuf haché. La combinaison de traitement atmosphère modifiée et huile essentielle (cannelle de Chine, origan d'Espagne et ou moutarde) est le seul traitement qui permet d'éliminer les bactéries lactiques durant l'entreposage. Néanmoins l'utilisation des huiles essentielles durant le stockage de 28 jours, combinée avec les traitements d'irradiation et d'emballage sous atmosphère modifiée permettent d'étendre la durée de vie et d'assurer l'innocuité du bœuf haché au cours du stockage.

Ces résultats montrent qu'un pré-traitement avec des huiles essentielles et l'utilisation de l'irradiation à faible dose ont un effet synergique avec l'irradiation pour réduire la charge microbienne du bœuf haché. Les huiles essentielles contenues dans la cannelle de Chine, l'origan d'Espagne et la moutarde ont agit comme des agents antimicrobiens en contrôlant la prolifération microbienne et en prévenant la détérioration du bœuf haché durant le stockage permettant ainsi de prolonger la durée de vie du bœuf haché frais conservé au réfrigérateur (4°C).

L'irradiation du bœuf haché, pour résoudre le problème de contamination, est une solution à envisager au Canada afin de réduire les pertes dues à l'altération du bœuf haché et d'éliminer les problèmes d'infections alimentaires qui coûtent cher à la collectivité.

## Remerciements

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont collaboré avec moi dans ces travaux de recherche.

Je tiens tout d'abord à remercier le professeur Monique Lacroix pour m'avoir permis d'intégrer son équipe au sein de son laboratoire. Ceci m'a permis d'acquérir une expérience professionnelle des plus enrichissantes.

De plus, je tiens à remercier MSD Nordion International Inc., pour le financement du projet, ainsi que Jeannot, Réjean, Jacques et Guy pour leurs conseils et pour les nombreux tours de manivelle qu'ils ont dû faire pour irradier mes échantillons.

Je remercie également Mathieu Millette et Stéphane Salmiéri pour m'avoir soutenue, fait confiance, et avoir partagé leurs connaissances, leur rigueur et leur joie de vivre.

Mes remerciements vont aussi à l'ensemble du corps professoral de l'INRS-Institut Armand-Frappier pour la formation scientifique dispensée.

Et un grand remerciement à toutes les personnes qui ont travaillé à l'édifice 22 pour la bonne ambiance qui règne dans les laboratoires.

## Références bibliographiques

AGENCE DE SANTÉ PUBLIQUE DU CANADA 2001. Fiche technique Santé- Sécurité- Matière Infectieuses. Santé Canada. <http://www.phac-aspc.gc.ca/msds-ftss/msds143f.html>

AGENCE DE SANTÉ PUBLIQUE DU CANADA 2004 Mis à jour le 13 01.2006. [http://dsol-smed.phac-aspc.gc.ca/dsol-smed/ndis/m\\_prov\\_f.phtml?LOCALE=french&minx=-2565558&miny=-866267&maxx=3392873&maxy=4008812&ClassifyMap=1&ID=45b6a066be840&CLASS=0.00%3B0.39%3B1.86%3B4.35%3B4.87%3B9.34&mapAction=Query&CAUSE=108&YEAR=04&SEX=3&AGEGROUP=0&DATATYPE=r&reClassifyMap=Carte+mise+%E0+jour&ecumenes=on#newMap](http://dsol-smed.phac-aspc.gc.ca/dsol-smed/ndis/m_prov_f.phtml?LOCALE=french&minx=-2565558&miny=-866267&maxx=3392873&maxy=4008812&ClassifyMap=1&ID=45b6a066be840&CLASS=0.00%3B0.39%3B1.86%3B4.35%3B4.87%3B9.34&mapAction=Query&CAUSE=108&YEAR=04&SEX=3&AGEGROUP=0&DATATYPE=r&reClassifyMap=Carte+mise+%E0+jour&ecumenes=on#newMap)

AGRICULTURE ET AGROALIMENTAIRE CANADA. 2002. Rapport sur le rendement. [http://www.tbs-sct.gc.ca/rma/dpr/02-03/AAFC-AAC/AAFC-AAC03D01\\_f.asp#s3-1](http://www.tbs-sct.gc.ca/rma/dpr/02-03/AAFC-AAC/AAFC-AAC03D01_f.asp#s3-1)

ANDREWS, A. M., Grodner, R.M., Liuzzo, J.A., Murano, P.S., Murano, E.A., Rao, R.M., and S. P. W. Wilson. 1998. Food preservation using ionizing radiation. *Reviews of environmental contamination and toxicology* 154:1-53

ANON. 1994. Food-borne pathogens, risk and consequences. Council for Agricultural Science and Technology. Task Force Report No. 122, Ames, IA., USA.

ANURADHA, P., and D. Foley. 2004. Improving Safety and Extending Shelf life of Fresh-cut Fruits and Vegetables Using Irradiation. *Irradiation and packaging, Recent Developments*. 90-105

ATLAS DU CANADA, Ressource naturel du Canada, 1996. <http://atlas.nrcan.gc.ca/site/francais/maps/economic/agriculture/agriculture1996/beefcattlebycd1996/1>

BANDISTING, C. 2004. Food Irradiation and Marketing in Thailand. *Irradiation and packaging, Recent Developments*. 14-24

BARAKAT, R. K., Harris L J. 1999 *Appl Environ Microbiol*. 65 : 342-345

BERRANG. M. E., Brackett, R. E., and L. R. Beuchat. 1989a. *J Food Prot*. 52: 702-705

BERRANG, M.E., Brackett, R.E., and L. R., Beuchat. 1989b. *Appl Environ Microbiol*. 55 :2167-2171

BOURGEOIS, C.M., and J. Y Leveau. 1990 *Microbiologie alimentaire Tome 2. Les fermentations alimentaires*.

BURT, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International J Food Microbio*. 94: 223-253.

BORCH, E., M. L. Kant-Muermans et Y. Blixt. 1996. Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *Int. J. Food Microbiol*. 33: 103-120

CABANA, S. 1996. Dossier l'irradiation au service de l'alimentation. ed : Réseau, le magazine de l'université du Québec pp 18-19

CAILLET, S., Shareck, F., and M. Lacroix. 2005. Effect of gamma Radiation and oregano essential oil on murein and ATP concentration of *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of food protection*. 68: 2571-2579

CAILLET, S., Millette, M., Turgis, M., Salmieri, S., and M. Lacroix. 2006. The influence of antimicrobial compounds and modified atmosphere packaging on radiation sensitivity of *Listeria monocytogenes* present in ready to use carrots (*Daucus carota*). *Journal of Food Protection*. 69: 221-227

CANFAX: Statistiques Canada, 2003. Institut canadien de la santé animal, <http://www.cah-icsa.ca/fr/food-stats.php#Beef>. page consultée le 22 décembre 2005

CARSON, C. F., Mee, B. J., and T. V. Riley. 2002. Mechanism d'action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial agent and chemotherapy*. 46 :1914-1920

CENTRE QUÉBÉCOIS D'INSPECTION DES ALIMENTS ET DE SANTÉ ANIMALE. Mai 2006. Bilan annuel Toxi-infections alimentaires et Plaintes requérant des prélèvements alimentaires 1er avril 2005 au 31 mars 2006

CENTRE D'INFORMATION SUR LE BŒUF : <http://www.beefinfo.org/fr/index.cfm>

CHANG, S. S., Matijasevic, B. O., Hsieh, O. A. L. and Huang, C. L. 1977. Natural antioxydant from rosemary and sage. *J. Food Science*. 42: 1102-1106

CLAVERO, M. R., Monk. J. D., Beuchat. L. R., Doyle, M. P., and R. E. Brackett. 1994. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonellae*, and *Campylobacter jejuni* in raw Ground beef by gamma irradiation, *Appl. Environ microbiol.* 60(6):2069-75.

CHIASSON, F., Borsa, J., Ouattara, B., and M. Lacroix. 2004. Radiosensitization of *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhi in ground beef. *J Food Pro.* 67 (6): 1157-62

CHIASSON, F., Borsa, J., Ouattara, B., and M. Lacroix. 2005. Combined effect of carvacrol and packaging conditions on radiosensitivity of *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhi in ground beef. *J Food Prot.* 68 : 2567-70

COMITÉ SUR L'UNIFORMISATION DES MÉTHODES D'ANALYSES ET  
L'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS ANALYTIQUES (CUMAIRA), mars 2003

COSENTINO, S. Tuberoso, C. I., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E., and F. Palmas. 1999. In vitro antimicrobial activity and chemical composition of *sardinian Thymus* essential oil. *J Food Prot.* 29: 130-5

CUMAIRA, 2003. Lignes directrices pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire. Le centre québécois d'inspection des aliments et de santé animale du ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation. p24

De, M., De, K., and A. B Banerjee 1999. Antimicrobial screening of some Indian spices. *Phytother. Res.* 13:616-8

DEIGHTON, N., Glidewell, S. M., Deans, S. G. and B. A. Goodman. 1993. Identification by EPR spectroscopy of carvacrol and thymol as the major sources of free radicals in the oxidation of plant essential oils. *J. Sci. Food Agric.* 63: 221-225.

KENNEDY. C. J and Archer (éditeur) 1997. Optimisation de la qualité et de la stabilité des aliments congelés. Guide des dernières innovations en matière à l'adresse des producteurs (rapport 2). University of Leeds. p16-18

DAFERERA, D. J., Ziogas, B. N., and M. G. Polissiou. 2000, GC-MS analysis of essential oil from greek aromatic plants and their fungitoxicity on *penicillium digitatum*. *J of agric food Chem.* 48: 2576-81

DEANS, S. G., and G. Ritchie. 1997. Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*. 5(2):165–80

EMSWILER, B. S., Pierson, C.J., and A. W. Kotula. 1976. Bacteriological quality and shelf life of ground beef. *Appl Environ Microbiol*. 31(6): 826-30

GILL, C. O., and G. G. Greer, 1993. Enumeration and identification of meat spoilage bacteria. Technical Bulletin 1993-8E. Research Branch, Agriculture and Agri-Food Canada, Ottawa, Ontario, Canada.

GILL, C. O., and M McGinnis. 1993. Changes in the microflora on commercial beef trimmings during their collection, distribution and preparation for retail sale as ground beef. *Int. J. Food Microbiol*. 1: 321-32.

GPEM/DA. 2003. Spécification technique n° B1-12-03 du 28 janvier 2003 applicable aux viandes hachées et aux préparations de viandes hachées d'animaux de boucherie

GRANT, I. R., and M. F. Patterson. 1991. Effect of irradiation and modified atmosphere packaging on the microbiological safety of minced pork stored under temperature abuse conditions. *Int. J. Food Sci. Technol*. 26:521–533.

HAO, Y. Y., Brackett, R. E., and M. P. Doyle. 1998. Efficacy of plant extracts in inhibiting *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* in refrigerated cooked poultry. *Food Microbiology* 15. 367-78.

HARPAZ, S., Glatman, L. Drabkin, V. and A. Gelman. 2003. Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwater-reared Asian sea bass fish (*Lates calcarifer*). *Journal of Food Protection*. 66 :410-17.



JEONGMOK, K., Marshall, M. R., and W. E. I. Cheng-I. 1995. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43: 2839-45.

JERKOVIC, I., Mastelic, J., and M. Milos 2001. The impact of both season of collection and drying on the volatile constituents of *origanum vulgare L. ssp. Hirtum* grown wild in Croatia. *International journal of food science et technology*. 36: 649-654

KALEMBA, D., and A. Kunicka. 2003. Antimicrobial properties of some herb essentials oils. *Curr Med Chem*. 10: 813-29

KARATZAS, A. K., Kets, E. P. W., Smid, E. J., and M. H. J. Bennik. 2001. The combined action of carvacrol and high hydrostatic pressure on *Listeria monocytogenes* Scott A. *Journal of Applied Microbiology*. 90: 463-469.

KIM, J.M., Marshall, M.R., Cornell, J.A., Preston, J.F., Wei, C.I., 1995b. Antibacterial activity of carvacrol, citral, and geraniol against *Salmonella typhimurium* on culture medium and on fish cubes. *Journal of Food Science* 60: 1364-1374.

KENNEDY. C and G.P. Archer. 1997. Optimisation de la qualité et de la stabilité des aliments congelés. Guide des dernières innovations en matière à l'adresse des producteurs (rapport 2). University of Leeds. p16-18

KOUTSOUMANIS, K., Lambropoulou, K., and G-J. E Nychas. 1999. A predictive model for the non-thermal inactivation of *Salmonella enteritidis* in a food model system supplemented with a natural antimicrobial. *International Journal of Food Microbiology*. 49: 63-74.

LACROIX, M., Jobin, M., Hamel, S., Stahl, L., and C. De Couvercelle. 1991. Effect of 3 and 7 kGy gamma irradiation doses on odor and flavor on fresh chicken breast. *Microbiologie- Aliments- Nutrition*. 9: 375-379.

LACROIX, M., Gagnon, M., Latreille, B., Probst, C., Simard, C., and S. Boileau. 1992. Effects of the dose rate of irradiation, vacuum packaging and cold storage on porcine proteins. *M.A.N Microbiol. Aliment. Nutr.* 10 : 253-260

LA GAZETTE DU CANADA, Gouvernement Canada, Vol. 136, No 47 - Le 23 novembre 2002 Règlement modifiant le Règlement sur les aliments et drogues (1094 - irradiation des aliments)

LAMBERT, R. J., Skandamis, P. N., Coote, P.J., Nycha, G. J. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil thymol and carvacrol. *Journal of applied microbiology.* 91: 453-462

LARMOND, E. 1979. Méthode d'appréciation sensorielle des aliments en laboratoire. Direction de la Recherche, Ministère de l'Agriculture du Canada. Publication 1637

LARSON, A. E., Johnson, E. A., Barmore, C. R., and M. D. Hughes. 1997. *J food Protect.* 60: 1208-1214

LEFEBVRE, N., Thibault, C., Charbonneau, R., and J-P. G. Piette. 1994. Improvement of shelf-life and wholesomeness of ground beef by irradiation. 2. Chemical analysis and sensory evaluation. *Meat Science.* 36: 371-80

LEMAY, M. J., Choquette, J., Delaquis, P. J., Claude, G., Rodrique, and N., Saucier. L. 2002. Antimicrobial effect of natural preservatives in cooked and acidified chicken meat model. *Int J Food Microbiol.* 78 :217-26

MARINO, M., Bersani, C., and G. Comi. 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oil from *Lamiaceae* and *compositae*. *International journal of food microbiology.* 67:187-95

MERRITT, C. Jr., Angelini, P., and R. A. Graham. 1978. Effect of radiation parameters on the formation of radiolysis products in meat and meat substances. *J. Agric. Food Chem.* 26: 29-35.

MCGIMPSEY, J. A., Douglas, M. H., and J. W. Van Klink. 1994. Seasonal variation in essential oil yield and composition from naturalized *Thymus vulgaris L* in New Zealand. *Flavour and fragrance journal.* 9 (6) : 347-52

MILLETTE, M. 2003 Études d'immobilisation de bactéries lactiques et de leurs métabolites comme moyen de contrôle de microorganismes pathogènes dans les viandes. Mémoire de maîtrise. Université du Québec. Institut national de la recherche scientifique. p 12

MUSÉE DE GRASSE : musée International de la parfumerie.  
<http://www.php.museesdegrasse.com/>

MINISTÈRE DE LA JUSTICE CANADA. décembre 2005. Normes des produits de viande. ANNEXE I (articles 5 à 8, paragraphe 21(1), alinéa 24c) et paragraphe 94(4)

MOUREY, A., and N. Canillac. 2002, Anti-*Listeria monocytogenes* activity of essentials oils of *origanum bargyli mouterde* from turkey. *Journal of essential oil research.* 16: 517-519

NAKATANI, N., and R. Inatami. 1981. Structure of rosmanol, new antioxidant from rosemary. *Agric. Biol. Chem.* 45: 2385-2386.

NAWAR, W. W. 1972. Radiolytic changes in fats. *Radiation Res. Rev.* 3:327-334.

NEWTON, K. G., Harrison, C. L., and A. M. Wauters. 1978. Sources of psychrotrophic bacteria on meat at the abattoir. *Journal of Applied Bacteriology.* 45: 75-82

Nordion international inc. 1990. L'irradiation des aliments. [www.mds.nordion.com](http://www.mds.nordion.com)

O.M.S. 1981. Wholesomeness of irradiated foods. World Health Organization, Technical Report. Report of joint FAO/IAEA/WHO Expert Committee. :659.

OUATTARA, B. 1998. Développement d'un emballage antimicrobien pour les viandes et les produits carnés. Thèse présentée pour l'obtention d'un grade de Ph.D. en Science et Technologie des aliments à l'université Laval Québec, Canada, p1-50

OUATTARA, B., Sabato, S. F., and M. Lacroix. 2001. Combined effect of antimicrobial coating and gamma irradiation on shelf life extension of pre-cooked shrimp (*Penaeus spp*). International journal of food microbiology. 68: 1-9

OUSSALAH, M., Caillet, S., Salmieri, S., Saucier., L. and M. Lacroix. 2004. Antimicrobial and Antioxydant Effects of Milk Protein-Based Film Containing Essential Oils for the Preservation of Whole Beef Muscle. *J. Agric. Food. Chem.* 52: 598-05.

OUSSALAH, M., Caillet, S., Salmieri, S., Saucier., L. and M. Lacroix. 2006. Antimicrobial effects of Alginate-Based Films Containing Essential Oils on *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium Present in Bologna and Ham. *J. Food-Prot.* 70(4):901-908.

Penalver, P., Huerta, B., Borge, C., Astorga, R., Romero, R., and A. Perea. 2005. Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the Enterobacteriaceae family. *APMIS.* 113(1):1-6

PRESCOTT, L., J. P. Harley et D.A. Klein. 1995. Microbiologie. Université de Boeck, Belgique.

RAYBAUDI-MASSILIA, R. M., Mosqueda-Melgar, J., and O. Martin-Belloso. 2006. Antimicrobial activity of essential oils on *Salmonella enteridis*, *Escherichia coli*, and *Listeria innocua* in fruit juices. *J Food Prot.* 69:1579-86

ROBERTS, W. T, and J.O. Weese. 1998. Shelf life of ground beef patties treated by gamma radiation. *Journal of food protection*. 61:1387-9

ROCELLE, M., S. Clavero, J. D. Monk, L. R. Beuchat, M. P. Doyle, and R. E. Brackett. 1994. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, Salmonellae, and *Campylobacter jejuni* in raw ground beef by gamma irradiation. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 2069-2075.

ROLLERP, S., and P. Seedhar. 2002. Carvacrol and cinnamic acid inhibit microbial growth in fresh-cut melon and kiwifruit at 4°C and 8°C. *Letters in Applied Microbiology*. 35(5):390-4

ROSSET, R. 1990. Réfrigération et congélation. «Microbiologie alimentaire». Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaires. *Technique et Documentation Lavoisier. APRIA. Paris.* 371-393.

RHODES, D. N. and H. J. Shepherd. 1966. The treatment of meats with ionizing radiations. XIII. Pasteurisation of beef and lamb. *J. Sci. Food Agric.* 17: 287-297

SALZER, U. J. 1977. The analysis of essential oils and extracts (oléorésins) from seasonings--a critical review. *Critical review in food science and nutrition.* 9: 345-73

SANTE CANADA. 2003. Irradiation de la viande hachée : Résumé du processus de soumission. [http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/securit/irridation/gbeef\\_submission-soumission\\_viande\\_hachee01\\_f.html](http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/securit/irridation/gbeef_submission-soumission_viande_hachee01_f.html)

SENATORE, F., 1996. Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides L*) Growing wild in campagna (southern Italy), *Journal Agric food Chem.* 44: 1327-1332

SILLIKER, J. H., Elliot, R. P., Baird-Parker, A. and F. Bryan. 1980. Microbial Ecology of foods. Academic press, London. Dafoe QR 115 M45 v2

SINGH, N., Singh, R. K, Bhunia, A. K, and R. L. Strohshine. 2002. Efficacy of chlorine dioxide, ozone and thyme essential oil or a sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots. *Lebensmittelwissenschaften und Technologien*. 35: 720-29.

SKANDAMIS, P., Koutsoumanis, K., Fasseas, K., and G-J. E. Nychas. 2001. Inhibition of oregano essential oil and EDTA on *Escherichia coli* O157:H7. *Italian journal of food science*. 13: 65-75

SKANDAMIS, P.N., and G. J. Nychas. 2001. Effect of oregano essential oil on microbiology and physicochemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *Journal of applied microbiology*. 91, 1011-1022

STAMMEN K., D. Gerdes, and F. Caporaso. 1990. Modified atmosphere packaging of sea food. *Crit Rev Food Sci. Nutr*. 29: 301-31.

STATISTIQUE CANADA. 2004. Le quotidien. Mai 2004

STATISTIQUES CANADA. 2000. Revenu agricole net et recettes monétaires agricoles. Le quotidien. 25 mai 2005

STRINGER, W. C., Bilskies, M. E., and N. D. Naumann. 1969. Microbial profiles of fresh beef. *Food Technology*. 23:97-102

SUDARMADJI, S., and W. M., Urbain. 1972. Flavor sensitivity of selected animal protein foods to gamma radiation. *J. Food Science*. 37: 671-672.

THAYER, D. W. and G. Boyd. 1995. Radiation sensitivity of *Listeria monocytogenes* on beef as affected by temperature. *J. Food Sci.* 60: 237-240.

TSIGARIDA, E, Skandamis, P., and G-J. E. Nychas. 2000. Behaviour of *Listeria monocytogenes* and autochthonous flora on meat stored under aerobic, vacuum and modified atmosphere packaging conditions with or without the presence of oregano essential oil at 5°C. *Journal of Applied Microbiology.* 89:901–909.

ULTEE, A., Kets, E.P., and E. J. Smid. 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and environmental microbiology.* 65: 4606 - 4610

ULTEE, A., Slump, R. A., Steging, G., and J. E. Smid. 2000. Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice. *Journal of Food Protection.* 63: 620-624.

ULTEE, A., Ennik, M. H., and R. Moezelaar. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and environmental microbiology.* 68 :1561-1568

URBAIN, W. M. 1986. Radiation preservation of meat and meat products: a review. *Meat Sci.*, 12 : 61-89

VRINDA MENON, K., and S. R. Garg. 2001. Inhibitory effect of clove oil on *Listeria monocytogenes* in meat and cheese. *Food Microbiology.* 18. 647-50

WINTHER, M., and P. V. Nielsen. 2006 Active packaging of cheese with allyl isothiocyanate, an alternative to modified atmosphere packaging. *J Food Prot.* 69 :2430-5

WU, J. M., Lee, M. H., Ho, C. T. and S. S. Chang. 1982. Elucidation of the chemical structures of natural antioxidants isolated from rosemary. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 59: 339-345.