DOCTORAT ECOLOGIE BRETAGNE GEOSCIENCES LOIRE AGRONOMIE ALIMENTATION

Oniris
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE, AGROALIMENTAIRE ET DE L'ALIMENTATION
SANTÉ ET ALIMENTATION AU CŒUR DE LA VIE

THESE DE DOCTORAT DE

ONIRIS

Ecole Doctorale n° 600

Ecole doctorale Ecologie, Géosciences, Agronomie et Alimentation
Spécialité : Statistiques / Modélisation en Ecologie, Géosciences, Agronomie et Alimentation

Par
Ngoc-Du Luong

Mieux comprendre l'altération microbiologique de saucisses fraîches au travers du prisme de la modélisation

Thèse présentée et soutenue Nantes, le 13 octobre 2020

Unité de recherche : UMR 1014 Secalim, INRAE, Oniris

Composition du Jury

Président	
El-Mostafa Qannari	Professeur, Oniris, Nantes, France
Rapporteurs	
Arthur Tenenhaus	Professeur, CentraleSupelec, Gif-sur-Yvette, France
Annemie Geeraerd	Professeur, KU Leuven, Belgique
Examinateurs	
Véronique Huchet	Docteur, ADRIA Développement, Quimper, France
Directeur de thèse	
Sandrine Guillou	Ingénieur de recherche, Oniris, Nantes, France
Encadrants de thèse	
Jeanne-Marie Membré	Ingénieur de recherche, INRAE, Nantes, France
Louis Coroller	Professeur, Université de Brest, IUT Quimper, Quimper, France
Invité	
Véronique Cariou	Maître de conférences, Oniris, Nantes, France

DOCTORAT ECOLOGIE BRETAGNE GEOSCIENCES LOIRE AGRONOMIE ALIMENTATION

Oniris ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE, AGROALIMENTAIRE ET DE L'ALIMENTATION SANTÉ ET ALIMENTATION AU CŒUR DE LA VIE

Thèse de doctorat

Oniris, École Nationale Vétérinaire,
Agroalimentaire et de l'Alimentation de Nantes-Atlantique

École Doctorale n°600
Écologie, Géosciences, Agronomie et Alimentation
Spécialité du doctorat
Statistiques et Modélisation en Écologie, Géosciences, Agronomie et Alimentation

Mieux comprendre l'altération microbiologique de saucisses fraîches au travers du prisme de la modélisation

Soutenue le 13 octobre 2020, par

Ngoc-Du Martin Luong

Unité de recherche : UMR 1014 Secalim, INRAE, Oniris

Devant le jury composé de

Qannari El-Mostafa, Professeur, Oniris, Nantes, France	Président
Tenenhaus Arthur, Professeur, CentraleSupelec, Gif-sur-Yvette, France	Rapporteur
Geeraerd Annemie, Professeur, KU Leuven, Louvain, Belgique	Rapporteur
Huchet Véronique, Docteur, ADRIA Développement, Quimper, France	Examinateur
Guillou Sandrine, Ingénieur de recherche, Oniris, Nantes, France	Directeur de thèse
Membré Jeanne-Marie, Ingénieur de recherche, INRAE, Nantes, France	Encadrant
Coroller Louis, Professeur, Université de Brest, IUT Quimper, Quimper, France	Encadrant
Cariou Véronique, Maître de conférences, Oniris, Nantes, France	Invité

Remerciements

Je remercie tout d'abord tous les membres de mon jury de thèse d'avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse : les rapporteurs Annemie Geeraerd et Arthur Tenenhaus, l'examinateur et président du jury El-Mostafa Qannari et l'examinatrice Véronique Huchet. Mes remerciements vont ensuite à tous les membres de mon comité de suivi individuel pour leurs nombreux conseils scientifiques pendant ces trois années de thèse : merci à Simon De Givry pour ses conseils dans la modélisation ; à Marie-Laure Delignette-Muller qui m'a énormément guidé pour la recherche, et ce depuis mon master ; et un très grands merci à Véronique Cariou qui avait plusieurs casquettes dans ma thèse, à la fois membre du comité de suivi, membre invité du jury de thèse et ainsi qu'une collègue de travail pour une partie importante du projet de thèse.

Ma thèse n'aurait jamais abouti sans mes encadrants, et j'ai eu la chance d'être guidé par une excellente équipe d'encadrants, dont je suis très fier, et mes remerciements pour vous ne seront jamais suffisants et à la hauteur de ce que vous m'avez appris pendant ces trois dernières années. Un grand merci à Sandrine, pour ta patience, de m'avoir guidé dès les premiers jours de la thèse où mes connaissances en microbiologie (que ce soit théorie ou paillasse) étaient encore très primaires, de m'avoir appris beaucoup de choses ensuite, tant sur la biologie que d'autres compétences d'un doctorant/ingénieur, de m'avoir fait confiance dans différentes missions annexes de l'unité, de communications, d'avoir été à mon écoute quand j'avais besoin, … et la liste est encore longue ! Merci à Jeanne-Marie pour des moments de casse-tête avec les méthodes statistiques et les modèles, pour les réunions Quanti, pour ton énergie dans le travail et dans la vie quotidienne, pour tes recommandations de destination de randonnée, pour ton conseil anti-stress à ma première conférence « bois de l'eau et respire un coup », pour tes questions pertinentes sur mes recherches… Merci à Louis, mon troisième chef, qui a toujours veillé sur mon travail de loin tout en douceur, merci d'avoir fait des réunions en visio ou par téléphone avec moi parfois à l'improviste et très tard en journée parce que j'avais des besoins ponctuels, pour tes nombreux conseils... Bien évidemment, sans vous trois je n'en serais pas là aujourd'hui, vous avez toujours été très disponibles pour ma thèse, vous m'avez remis dans la bonne direction, voire me remettre « les pieds sur terre » quand il fallait car je partais parfois très loin, que ce soit pour une question de recherche ou pour la manière de gérer la thèse. Et rien que pour cela, je ne vous en remercie jamais assez !

Je tiens à remercier ensuite toutes les personnes du consortium Redlosses, avec qui j'ai eu beaucoup de discussions très enrichissantes ainsi qu'une ouverture d'esprit dans la recherche : merci à Simon pour m'avoir aidé dans mes premières d'extraction d'ADN, pour différentes discussions pour les analyses de données, merci à Sabine pour ta confiance et ta disponibilité pour pouvoir travailler avec moi sur une longue phase d'étude, merci à Marie-Hélène et Dalal ainsi que votre équipe technique (Adeline et Sophie) pour m'avoir accueilli dans votre centre à Strasbourg et pour de nombreuses discussions pertinentes sur les analyses, merci également à Carole, Bastien, Stéphane, Marie-Christine, Noémie, Nicolas K., Tatiana… pour vos expertises dans le domaine.

Je tiens ensuite à remercier tout le personnel de l'unité Secalim qui m'a accueilli à bras ouverts et qui m'ont permis de faire cette thèse dans une très bonne ambiance. Merci à Marie-France, directrice de l'unité, de m'avoir accueilli dans l'unité et m'avoir facilité mon intégration dans l'équipe dès mes

premiers jours de thèse. Merci aussi à Isabelle, excellente gestionnaire d'unité, qui a toujours été disponible, rapide et efficace quand j'avais besoin de régler des soucis administratifs. Merci à Patricia également de tes aides dans l'administratif, de ton sourire et de ta positivité qui nous donne tous de la joie et de la motivation. Merci aussi à Michelle pour m'avoir aidé surtout dans mes derniers jours de thèse pour la recherche de salle, pour l'impression de la thèse, et pour les bons moments passés ensemble au déjeuner.

Cette thèse est en quelque sorte pour moi une grande aventure après mon Master, car pour la première fois j'ai dû commencer une tâche importante jamais faite auparavant : les « manips ». Ces manips, je n'aurais jamais réussi à les faire tout seul sans l'aide de l'équipe technique de Secalim. Merci à Nicolas Souriceau, mon binôme de manips pendant des mois, de m'avoir appris comment faire des choses très concrètes en paillasse, d'avoir supporté avec moi l'odeur des saucisses pas très fraîches au laboratoire parfois dès 7h30 du matin… Merci à Valérie pour tes appuis techniques dans le projet et aussi pour tous les bons moments (danse, chant, yoga, pique-nique, rigolade, …) que l'on a passés ensemble pendant ces trois années. Merci aussi à Agnès, Sandrine R. et Albert pour votre gentillesse, pour vos discussions au labo et pour m'avoir aidé quand j'avais des problèmes de manips.

Mes remerciements vont aussi à toutes les autres personnes de Secalim avec qui j'ai passé de très bons moments pendant ces trois années. Merci à Monique de m'avoir guidé aussi dans les premières tâches en paillasse et pour les moments ensemble au repas du midi au Resto U, dans le train Nantes-Paris pour les réunions Redlosses, en conférence…, à Catherine, aussi pour les discussions au déjeuner au Resto U avec Marie-France et Jeanne-Marie où nous discutions de tous les sujets possibles, à toutes les autres personnes de l'unité avec qui j'ai partagé de bons moments au bureau ou pendant d'autres activités de l'unité : Nabila, Emmanuel, Laurent, Hervé, Jean-Michel, Michel… Une pensée également pour l'équipe de BIOEPAR qui partage le bâtiment G5 avec Secalim et partage également des moments de joie : Caroline, Deborah, Nicolas B., François, Fanny… Je remercie ensuite tous les doctorants et post-doctorants avec qui j'ai passé beaucoup de temps à mon bureau pendant ma thèse et merci particulièrement aux « anciens » qui m'ont beaucoup aidé tout le au long de la thèse : Nassima, Amélie, Raouf, Sabrina M., Vincent, Géraldine… Merci également à tous ceux qui n'ont pas vraiment passé une longue période à Secalim mais qui ont laissé de très bons souvenirs et des moments merveilleux, je pense notamment aux étudiants Masters ou Véto ou les doctorants en mobilité : la team « Bras nouilles » avec Justin, Paulin, Léon, Bertrand, Mayra, Gianfranco, Maxime, Mounia, Nabila, Gladys, Daniel (et Rahwa aussi bien sûr), Rodney, Juliana Lane…

Un immense merci, très particulier pour la team « Pouik-Pouik » qui a partagé la plus grande partie de ma vie de doctorant à Secalim et qui a vécu avec moi tous les hauts et les bas de ma thèse. Merci Alizée pour les soirées dansantes, les soirées jeux de société tout comme pour tes conseils professionnels, merci Benjamin pour ta confiance et de m'avoir écouté à chaque fois que j'avais besoin de parler, merci Nicolas H. pour la truite, la musique de Jean-Jacques Goldman et l'apéro, merci Georges pour le saucisson et aussi pour des moments de joies et de tristesses, merci Juliana de m'avoir apporté ton soutien et beaucoup de chocolats chauds pendant ma thèse, merci Morgane pour les rigolades et les diners au Curry House, merci le grand Norman pour les SchokoBons et le petit Aurélien pour les beignets et le café !

Je souhaiterais dire merci également à tous mes autres amis qui m'ont toujours soutenu et aussi aidé dans mes projets même s'ils ne sont pas à côté de moi. Je pense bien évidemment aux anciens du Master MIV : SBG, AG, SB, HT, QR, VJ, HD, à mes meilleurs amis que je connais depuis maintenant 10-20 ans : Ngô, Hanh, Mimi, Bich Phuong, Doan, Khanh Chi, Lu, Jeremy, Tuan Anh, Minh Hung, Quang Hung, Huan, Tu… Et bien sûr je n'oublie pas Thomas, Éric et Bryan que j'ai rencontrés à Nantes et qui ont vite pris une place importante dans ma vie.

Enfin, pour ma famille, un simple merci n'est jamais suffisant pour tout ce qu'elle m'a donné jusqu'aujourd'hui. Je le dis quand même, merci à ma mère d'avoir toujours cru en moi pour tout ce que je fais, pour son immense gentillesse et sa bienveillance, merci à ma sœur qui ne le dit jamais mais je sais qu'elle est toujours là pour moi quand j'ai besoin, merci à toutes mes tantes et mes oncles, au Vietnam, en France et aux Etats-Unis, pour leur soutien et leurs encouragements, aux dizaines de mes cousins et cousines dont je ne peux pas citer tous les noms ici (la liste serait très longue !) pour toutes les réunions en famille qui ont été pour moi des moments de bonheurs.

Je m'excuse très sincèrement si j'ai oublié quelqu'un qui a été là pour moi pendant toutes ces années. Écrire les remerciements fut une tâche plus dure qu'anticipée… Je n'en serais pas là aujourd'hui sans votre présence, vous avez tous contribué à ma vie d'aujourd'hui, merci encore à tous pour votre temps précieux et pour votre soutien, même minime. Écrire ces premières lignes du manuscrit m'a permis de comprendre comment vous avez tous été importants pour moi, et de me rendre compte que je n'ai jamais été seul, pour ce travail et pour la vie. Faire une thèse, ça a été une bien bonne idée.

Résumé

Le développement des bactéries pendant le stockage est une cause majeure de l'altération de la viande. Comprendre le lien entre les activités bactériennes et l'évolution de l'altération est difficile en raison de la complexité de l'écosystème alimentaire et nécessite l'intégration des données expérimentales variées. Cette thèse porte sur le développement d'outils statistiques et la modélisation de données hétérogènes issues d'analyses sensorielles, microbiologiques et physico-chimiques, en vue de mieux appréhender l'altération de saucisses fraîches de porc et de volaille. Quatre modèles différents ont été développés. Un modèle à effet mixte permet d'explorer les effets du temps de stockage et des stratégies de maîtrise mises en place au niveau industriel (formulation en lactate et atmosphère protectrice). Un modèle bayésien décrit l'évolution du pH des produits. Trois approches de régression multivariée évaluent le lien entre microbiote initial et dynamique de l'altération. Enfin, une approche d'intégration de données multi-block établit des liens de causalité entre le microbiote, le volatilome et les profils sensoriels.

Ces modèles ont confirmé le caractère dynamique des réponses associées à l'altération. La formulation et l'atmosphère protectrice se sont avérées avoir un effet différent selon le type de viande et la réponse étudiée. Le modèle multi-block a permis d'identifier des espèces bactériennes à l'origine de molécules volatiles responsables de perceptions sensorielles. La progression vers la prédiction de l'altération à partir de données microbiologiques nécessitera d'explorer encore davantage ces modèles adaptés au traitement de données complexes.

Abstract

The main cause of spoilage in fresh meat products is associated with the development of bacteria during storage. Understanding the link between bacterial activities and spoilage evolution in meat produced with preservations strategies may be difficult because of microbiota complexity and requires appropriate statistical analyses for integrating experimental data. This work aimed to develop innovative modelling tools in order to better understand microbiological spoilage in fresh poultry and pork sausages by integrating experimental data of microbiota, volatilome and sensorial profiles. Four different models were developed. A mixed-effect model enabled to study effects of lactate formulation and modified atmosphere packaging. A Bayesian model enabled to describe product pH over time. Three regression approaches were developed to evaluate the link initial microbiota and spoilage dynamics. At last, a multi-block approach was used to identify the causality link between microbiota, volatilome and sensorial profiles.

These models confirmed the dynamical nature of all considered spoilage-related responses. Lactate formulation and MAP revealed to have different effects on spoilage depending on the meat type and the studied response. Specific bacterial groups have been found to be responsible for several volatile compounds responsible producing off-odours. The developed models have several advantages of considering potential biological variability sources and of better analysing complex datasets. Progress towards predicting spoilage from microbiological data will require further exploration of these models suitable for processing complex data.

Table des matières

Liste des figures i
Liste des tables v
Liste des abréviations vii

Introduction 1
Contexte 2
Objectif du projet de thèse 4
Structure générale du manuscrit 5

Chapitre I : Etat de l'art 7
Préambule 8
Partie I.A – Mesure de l'altération et stratégies de préservation : Revue 9
2 Introduction 9
3 Material and methods 11
3.1 Query process of literature data 11
3.2 Collection of quantitative data associated with spoilage occurrence in meat products 14
3.2.1 Determination of spoilage occurrence time 14
3.2.2 Factors considered as influencing spoilage 14
3.2.3 Microbiological data 14
3.3 Statistical analyses 15
4 Results and discussion 15
4.1 Measurement of spoilage in meat products and control strategies 15
4.1.1 Types of meat and meat products associated with spoilage 15
4.1.2 Measurement of spoilage in meat products 16
4.1.3 Preservation and spoilage control strategies 19
4.2 Spoilage occurrence time in meat products 25
4.2.1 Spoilage occurrence time in red and white meat products 25
4.2.2 Influence of initial gas composition in the packaging 28
4.2.3 Influence of chilled storage temperature 32
4.2.4 Relationship between spoilage occurrence time and microbiological indicators 33
5 Conclusion 36
Partie I.B – Description de l'altération par la modélisation mathématique 38
1 Modélisation de réponses microbiennes 38
1.1 Microbiologie prévisionnelle : quelques généralités 38
1.2 Etudes ciblées sur un indicateur microbiologique 39
1.3 Modèles dynamiques et interaction entre plusieurs microorganismes 43
2 Description de l'altération par analyses multivariées 46
2.1 Tableau de données multivariées : Généralités et exemples dans l'étude de l'altération ... 46

2.2 Structure d'un bloc de réponses 49
2.3 Couplage de données 50
Conclusion du chapitre 60

Chapitre II – Données collectées 63
Présentation générale 64
Publications des données 66

Chapitre III – Effets du lactate et de l'atmosphère protectrice 75
Préambule 76
Article publié dans *Food Research International* 77
1 Introduction 78
2 Material and methods 80
2.1 Data acquisition 80
2.1.1 Sausage production and packaging 80
2.1.2 Microbiological analyses 82
2.1.3 pH measurement 82
2.1.4 Spoilage characterisation 82
2.2 Statistical analysis 84
3 Results and discussion 85
3.1 Evolution and correlations between spoilage responses during chilled storage 85
3.1.1 Evolution of different spoilage responses 85
3.1.2 Correlation analysis between physico-chemical and microbiological indicators 89
3.2 Effect of lactate formulation and modified atmosphere packaging on spoilage indicators: turkey *versus* pork sausages 90
3.2.1 Random effect of batches 95
3.2.2 Effects of lactate formulation 95
3.2.3 Evolution of gas composition and effects of modified atmosphere packaging 96
3.2.4 Effects on visual defects 98
3.3 Correlated responses of spoilage and relationships with preservation strategies 99
4 Conclusion 101
Synthèse et conclusion du chapitre 106

Chapitre IV – Modélisation dynamique de l'acidification de saucisses de volaille 107
Préambule 108
Article soumis dans *International Journal of Food Microbiology (a)* 109
1 Introduction 111
2 Material and methods 112
2.1 Products and pH measurement 112

2.2 Dynamical hierarchical model ... 113
2.3 Parameters inference ... 115
3 Results ... 116
3.1 Simulation and adjustment check ... 116
3.2 Acidification rates under influence of lactate and modified atmosphere ... 119
3.3 Biological variability ... 122
4 Discussion ... 122
Conclusion du chapitre ... 126

Chapitre V – Etude du lien entre les conditions initiales et la dynamique de l'altération ... 129
1 Introduction ... 130
2 Matériels et méthodes ... 131
2.1 Indicateurs d'altération et variables explicatives ... 131
2.1.1 Données utilisées et réponse d'altération à expliquer ... 131
2.1.2 Prédicteurs potentiels au temps initial ... 132
2.2 Modèles développés ... 133
2.2.1 Détermination d'indicateurs de la dynamique d'altération : l'estimation des paramètres d'un modèle dynamique ... 133
2.2.2 Etudes des liens entre les variables et les indicateurs dynamiques ... 134
3 Résultats ... 137
3.1 Description globale des conditions initiales et des paramètres dynamiques estimés ... 137
3.2 Evaluation de la capacité prédictive de chaque stratégie d'analyse ... 139
3.2.1 Stratégie 1 - explication d'un indicateur d'altération par les mesures courantes au temps initial ... 139
3.2.2 Stratégie 2 : explication des scores sensoriels par les mesures courantes et la composition du microbiote au temps initial ... 140
3.2.3 Stratégie 3 : explication d'un indicateur résumé de l'altération par la composition du microbiote et les mesures courantes au temps initial ... 141
3.3 Sélection de modèle et effets des conditions initiales sur la dynamique de l'altération ... 142
4 Discussion ... 144

Chapitre VI – Etude des liens entre le microbiote, le volatilome et les profils sensoriels ... 147
Préambule ... 148
Article soumis dans *International Journal of Food Microbiology (b)* ... 149
1 Introduction ... 150
2 Materials and methods ... 152
2.1 The raw dataset ... 152
2.2 Statistical pre-treatments of raw data ... 155
2.3 Multi-block Path-ComDim approach ... 155

3 Results 157
3.1 Spoilage associated responses in the pre-treated dataset 157
3.2 Structuration of the data by Path-ComDim common dimensions 157
3.3 Relationships between specific spoilage-associated responses 161
4 Discussion 166
Conclusion du chapitre 177

Discussion générale 179
1 Synthèse des stratégies d'analyse et résultats principaux 180
1.1 Effet du lactate de potassium et de l'atmosphère protectrice sur les différentes mesures courantes 180
1.2 Modélisation de la dynamique l'acidification de saucisses de volaille sous l'influence du lactate et de l'atmosphère 181
1.3 Evaluation de la capacité de prédiction de la dynamique de l'altération en fonction des conditions initiales 181
1.4 Lien entre le microbiote, le volatilome et les profils sensoriels 182
2 Discussion générale et perspectives 182
2.1 L'altération de la viande fraîche est un phénomène complexe 182
2.2 Apport de la modélisation à la compréhension de l'altération 185
2.3 Difficultés majeures de l'étude 187

Références bibliographiques 193

Valorisation des travaux de recherches 223

Liste des figures

Figure I. 1 Flow chart outlining the procedure for quantitative data collection from the literature. 13

Figure I. 2 Publications considered in the review and evolution of approaches of spoilage assessment 16

Figure I. 3 Main preservation strategies identified in collected studies 20

Figure I. 4 Distribution of spoilage occurrence time. 28

Figure I. 5 MAP triangular graph depicting the spoilage stage following different initial proportions of O2 and carbon dioxide in the packaging. 29

Figure I. 6 Spoilage occurrence time of meat products stored in packaging containing more or less than 5% of O_2 or carbon dioxide 31

Figure I. 7 Spoilage occurrence time observed at different storage temperatures. 32

Figure I. 8 Distribution of bacterial count observed at spoilage occurrence time for different microbiological indicators in early and belated spoilage stages 34

Figure I. 9 Enumeration of different microbiological indicators observed at spoilage occurrence times. 35

Figure I. 10 Exemples de modèles dynamiques ajustés aux mêmes données expérimentales pour décrire la croissance de Listeria monocytogenes à 5°C (extrait des travaux de McKellar and Lu (2004)). 41

Figure I. 11 Exemple de manière d'organiser les lignes et colonnes d'un tableau contenant plusieurs blocs de réponses mesurées sur plusieurs échantillons classés dans différents groupes en fonction des variables indépendantes. 47

Figure I. 12 Illustration de différentes manières de visualisation d'un jeu de données (données fictives). 48

Figure II. 1 Large-scale strategy for the analysis of meat sausage samples and production of the dataset. 70

Figure III. 1 Experimental design. 81

Figure III. 2 pH evolution as a function of experimental conditions (concentration of lactate and atmosphere packaging). 87

Figure III. 3 Pairwise plots between sensory, physico-chemical and microbiological responses monitored during chilled storage of pork and turkey sausages. 90

Figure III. 4 Visual alterations of sausages during chilled storage (Packaging swelling and Exudate). 98

Figure III. 5 Schematic representation of the effects of process parameters on acidification, growth of LAB and off-odour perception. 100

Fig. III-S. 1 Off-odour score evolution as a function of experimental conditions (concentration of lactate and atmosphere packaging). 102

Fig. III-S. 2 Lactic acid bacteria enumeration as a function of experimental conditions (concentration of lactate and atmosphere packaging). 102

Fig. III-S. 3 Total mesophilic aerobic bacteria enumeration as a function of experimental conditions (concentration of lactate and atmosphere packaging). 103

Fig. III-S. 4 Evolution of the CIE L* value as a function of experimental conditions (concentration of lactate and atmosphere packaging). 103

Fig. III-S. 5 Evolution of the CIE a* value as a function of experimental conditions (concentration of lactate and atmosphere packaging). 104

Fig. III-S. 6 Evolution of the CIE b* value as a function of experimental conditions (concentration of lactate and atmosphere packaging). 104

Fig. III-S. 7 Estimated coefficients for interactions between fixed factors of storage time, packaging or lactate on spoilage responses in pork and turkey sausages. 105

Figure IV. 1 pH value of sausage as a function of storage time (expressed in day) under different process conditions (lactate formulation and atmosphere packaging). 113

Figure IV. 2 (a) Directed Acyclic Graph (DAG) of the model. (b) Schematic representation of the deterministic part describing evolution of the average pH with different acidification rates under different process conditions. 114

Figure IV. 3 Correlation between estimated model parameters. Lower graphs: scatter plot of 500 random sampled values from MCMC simulation output. Upper graph: Spearman correlation coefficient. Diagonal graphs: posterior distributions. 117

Figure IV. 4 Comparison of the observed experimental pH values with those adjusted by the model 118

Figure IV. 5 Comparison between adjusted and observed data for samples under different process conditions. 118

Figure IV. 6 Estimated distribution for acidification rates under different process conditions (lactate concentration and modified atmosphere). 120

Figure IV. 7 (Left graph) Distribution of initial pH value μ_{pH_0} (prior: black curve, posterior: red curve). (Right graph) Distribution of standard deviation parameters for initial pH value $\sigma pH0$ and for pH value at each sampling time point σ_{pH} 122

Figure V. 1 Score sensoriel des saucisses de volaille pour différents lots, deux formulations en lactate et trois mélanges gazeux utilisés pour le conditionnement. 132

Figure V. 2 Représentation schématique du modèle dynamique pour décrire l'évolution du score sensoriel issue de différentes conditions initiales. 134

Figure V. 3 Représentation schématique des stratégies d'analyse utilisées pour l'étude des liens entre les conditions initiales et la dynamique de l'altération 137

Figure V. 4 Estimation du paramètre demi-altération t_{50} (exprimé en jour) par le modèle dynamique décrivant l'évolution du score sensoriel. 139

Figure V. 5 Ajustement des modèles de régression multiple décrivant la demi-altération t50, la vitesse d'altération κ et la racine carrée de la vitesse d'altération κ par les mesures courantes au temps initial. 140

Figure V. 6 Ajustement du modèle PLS2 décrivant le score sensoriel mesuré à différents temps de suivi par les mesures courantes et la composition initiale du microbiote. 141

Figure V. 7 Ajustement des modèles PLS1 décrivant la demi-altération t_{50}, la vitesse d'altération κ et la racine carrée de la vitesse d'altération κ par les mesures courantes et la composition du microbiote au temps initial 142

Figure V. 8 VIP des variables considérées dans la stratégie d'analyse 3 - explication de la demi-altération t_{50} par les mesures courantes et la composition du microbiote au temps initial (uniquement avec les variables retenues après l'étape de PLS « filtrage »). 143

Figure VI. 1 Data pre-treatment workflow 154

Figure VI. 2 Configuration of the products according to the three first dimensions (with their relative importance) of Path-ComDim analysis depending on different factors in the experimental design: sampling time, modified atmosphere packaging and lactate formulations 159

Figure VI. 3 Path-ComDim – first dimension: inertia, relatives saliences, significance of each link and contribution matrices. 162

Figure VI. 4 Path-ComDim – second dimension: inertia, relatives saliences, significance of each link and contribution matrices. 164

Figure VI. 5 Path-ComDim – third dimension: inertia, relatives saliences, significance of each link and contribution matrices. 165

Fig. VI.S 1 Variance of each response in the pre-treated dataset as input of Path-ComDim... 173

Fig. VI.S 2 Spearman rank sum correlation between responses from different blocks (Inter-block correlation). 174

Fig. VI.S 3 Spearman rank sum correlation between responses within each block (Intra-block correlation). 175

Fig. VI.S 4 Configuration of the products according to the first and third dimensions of Path-ComDim depending on the factors Atmosphere (Air packaging, MAP1:70%O_2-30%CO_2, 50%CO_2-50%N_2) and Sampling time (Day 2, Day 8 and Day 15) and correlation circle associated with the measured variables. 176

Liste des tables

Table I. 1 Application of formulation for preserving fresh meat and processed meat products... 21

Table I. 2 Data collected on spoilage occurrence time estimated from different experimental conditions in 24 studies. 26

Table I. 3 Enumeration of different bacterial groups at the spoilage occurrence time (overall, early and belated spoilage). 35

Table I. 4 Approches d'analyses de données multivariées proposées dans différentes études récentes (2010-2018). 52

Table II. 1 Specifications of the collected dataset. 67

Table II. 2 List of supplementary tables making up the dataset. 70

Table III. 1 Evolution of average inter-batch physico-chemical and microbiological responses recorded during the chilled storage of pork and poultry sausages. 86

Table III. 2 Linear mixed effects analyses for relationship between spoilage responses and the storage time, packaging and lactate formulation: significance and estimations. 91

Table IV. 1 Parameters of the model: symbol, definition, unit, prior and posterior distribution... 121

Table V. 1 Indicateurs d'altération et prédicteurs potentiels considérés pour les stratégies d'analyse. 135

Table VI. 1 Importance of the first common components of Path-ComDim (absolute value of saliences) and contribution of each link to the determination of these components. 158

Liste des abréviations

ABC	*Approximate Bayesian Computation*
ACP	Analyse en Composantes Principales
ADL	Analyse discriminante linéaire
ADN	Acide désoxyribonucléique
AFC	Analyse factorielle des correspondances
AFD	Analyse factorielle discriminante
AFLP	*Amplified Fragment Length Polymorphism*
AFNOR	Association française de normalisation
ANN	*Artifical Neural Network*
ANOVA	Analyse de variance (*Analysis of Variance*)
ANR	Agence Nationale de la Recherche
ARNr	Acide ribonucléique ribosomique
BA	*Biogenic amines*
CAP	Analyse canonique des coordonnées principales
CCA	Analyse canonique de corrélation
CFU	*Colony Forming Unit*
CI	*Credible/Confidence Interval*
CIE	*International Commision on Illumination* (Commission Internationale de l'Eclairage)
DGGE	*Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*
DNA	*Deoxyribonucleic acid*
DZD	*Decomposition Zone Diameter*
EDTA	*Ethylenediaminetetraacetic acid*
FROGS	*Find Rapidly OTUs with Galaxy Solution*
FT-IR / ATR	*Fourier Transformed Infrared Spectroscopy / Attenuated Total Reflectance*
GA	*Genetic Algorithm*
GLM	*Generalized Linear Model* (Modèle linéaire généralisé)

GP	*Genetic Programming*
HAC	*Hierarchical Agglomerative Clustering / Classification*
HPLC	*High-performance liquid chromatography*
HPP	*High Pressure Processing*
HS-GC-MS	*Headspace Gas Chromatography Mass Spectrometry*
HTS	*High-throughput sequencing*
JAGS	*Just Another Gibbs Sampler*
LAB	Bactéries lactiques (*Lactic Acid Bacteria*)
LRM-LV	*Linear Regression Model on Latent Variable*
MALDI-TOF	*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight*
MAP	*Modified Atmosphere Packaging*
MCMC	*Markov Chain Monte Carlo*
MDS	*Multidimensional Scaling*
MJE	*Microencapsulated jabulicaba extract*
MLP	*Multilayer Perceptron*
MLR	*Multiple Linear Regression*
MRS	*Man, Rogosa, and Sharpe (agar)*
NMDS	*Non-metric Multidimentional Scaling*
OTU	*Operational Taxonomy Unit*
Path-ComDim	*Path Modelling with Common Dimensions*
PCA	*Plate Count Agar / Principal Component Analysis*
PCoA	*Principal Coordinates Analysis* / Analyse en Coordonnées Principales
PERMANOVA	*Permutational Analysis of Variance*
PLS-LV	*Partial Least Squares Regression on Latent Variable*
PLS-PM	*Partial Least Squares Path Modelling*
PLS-R	*Partial Least Squares Regression*
QDA	*Quantitative descriptive analysis*
RAPD	*Random Amplified Polymorphic DNA*
REML	*Restricted Maximum Likelihood*

RFLP	*Restriction Fragment Lenght Polymorphism*
rGCCA	*Regularized Generalized Canonical Correlation Analysis*
RMSE	*Root Mean Squared Error*
RMSEP	*Root Mean Squared Error of Prediction*
rRNA	*Ribosomal ribunucleic acid*
SO-PLS	*Sequential and Orthogonalised Partial Least Squares*
SSE	*Sum of Squared Error*
SSO	*Specific Spoilage Organisms*
SVM-R	*Support Vector Machine Regression*
TAMB	Flore totale de bactéries aérobies mésophiles (*Total aerobic mesophilic bacteria*)
TBARS	*Thiobarbituric acid reactive substances*
THEME	*THEmatic models with Multiple Equations*
TMA-N	*Trimethylamine nitrogen*
TTI	*Time Temperature Indicator*
TVB-N	*Total volatile basic nitrogen*
UFC	Unité Formant Colonie
UPGMA	*Unweighted pair group method with arithmetic mean*
VIP	*Variable Importance in Projection*
VOC	*Volatile Organic Compound*
VP	*Vacuum packaging*
WSSE	*Weighted Sum of Squared Error*

Introduction

Contexte

La viande et les produits carnés représentent une source de protéine animale importante pour l'alimentation humaine. Chaque année, 263 millions de tonnes de viande sont produits pour la consommation humaine au niveau mondial (FAO, 2015). Cependant, les éléments nutritifs de la viande et des produits carnés les rendent également fragiles et sensibles à l'altération au cours du temps pour différentes raisons physicochimiques ou biologiques (Pellissery et al., 2019). L'altération des produits carnés peut être définie par tout changement ou dégradation de leurs caractéristiques organoleptiques (odeur désagréable, texture ou couleur anormales, etc.) pendant la production, la transformation, la distribution ou pendant le stockage, dont la perception par le consommateur peut conduire à leur rejet (Huis in't Veld, 1996; Pellissery et al., 2019). Une quantité importante de produits carnés est ainsi perdue chaque année en raison de leur altération : il a été estimé que cette perte représentait plus de 20% de la production de viande (FAO, 2015). Par conséquent, la perte liée à l'altération de la viande induit des conséquences économiques importantes tant pour les acteurs industriels impliqués dans le processus de fabrication que pour les consommateurs.

La dégradation des caractéristiques organoleptiques de la viande peut être causée par différents mécanismes biologiques ou chimiques (Dave & Ghaly, 2011; Erkmen & Bozoglu, 2016; Huis in't Veld, 1996). Cependant, parmi les mécanismes possibles de dégradation, l'altération microbiologique représente la cause majeure de l'altération des produits carnés (Cerveny et al., 2009; Gram et al., 2002). L'altération microbiologique est due à la contamination par différents types de microorganismes pendant le processus de fabrication de la viande, et ensuite à leur développement au cours du stockage. Cette contamination au lieu tout au long du processus de production notamment en raison de la présence de microorganismes dans l'environnement de production (surfaces, équipement ou la manipulation humaine) (Hultman et al., 2015). De ce fait, l'ensemble des microorganismes qui sont présents sur le produit (que l'on qualifie de « microbiote ») et qui sont susceptibles de provoquer l'altération peut présenter une diversité importante, notamment d'un type de produit à un autre (Chaillou et al., 2015). L'altération microbiologique de la viande représente ainsi un phénomène complexe car au sein du microbiote initial, le(s) microorganisme(s) à l'origine de l'altération ne sont *a priori* pas clairement identifiés, et leur rôle et les mécanismes liés à l'apparition de l'altération au cours du stockage ne sont pas encore bien décrits. Comprendre l'altération microbiologique de la viande, par l'identification de l'origine de l'altération ainsi que la compréhension des mécanismes biologiques sous-jacents représente donc un enjeu scientifique majeur dans un contexte d'appui à la maîtrise de l'altération pour réduire la perte en production industrielle.

Dans le cadre d'études de l'altération, plusieurs types de mesures expérimentales peuvent être réalisés sur les produits pour en évaluer la qualité. Il s'agit le plus souvent de suivis au cours du temps de différentes réponses microbiologiques, physicochimiques ou sensorielles. Basées sur les données observées issues de ces mesures, des stratégies dites de préservation peuvent être ensuite mises en place au niveau industriel pour la maîtrise de l'altération. Cette notion de maîtrise de l'altération révèle de nombreuses questions de recherche :

- Pour un type de produit considéré, quels types de réponses d'altération qui peuvent être mesurés ?
- Quels sont les effets des stratégies mises en place par les industriels sur les réponses mesurées ?
- Est-il possible de formaliser ces effets en vue d'une prévision de l'apparition de l'altération au cours du temps ?
- Comment prendre en compte la variabilité biologique en condition industrielle dans l'évaluation de ces effets ?
- Est-il possible d'établir un lien entre les caractéristiques physicochimiques et microbiologiques des produits, à la fois conditionnées par les stratégies de préservation utilisées et la contamination par des microorganismes, et les réponses d'altération mesurées ?

Les approches expérimentales de suivi donnent historiquement accès à de nombreuses données associées à l'altération microbiologique des produits carnés, par exemple le dénombrement de différents microorganismes (Korkeala et al., 1985; Pavelková et al., 2014; Senter et al., 2000), des mesures physicochimiques (pH, mesure de l'oxydation, quantification des composés volatils, etc.) (Botta et al., 2018; Ortuño et al., 2014) ou encore des données issues d'analyses sensorielles (Fougy et al., 2016; Panea et al., 2014). La compréhension de l'altération en vue de sa maîtrise nécessite une exploitation approfondie de ces données afin de déchiffrer les origines et les mécanismes de l'altération en lien avec les réponses mesurées et l'évolution de l'altération en réponse aux stratégies de préservation. La modélisation statistique est en ce sens une approche incontournable pour la compréhension de l'altération, avec différentes méthodes possibles adaptées à chaque question de recherche : on peut distinguer principalement (i) des méthodes d'analyse à finalité exploratoire, par exemple, les analyses de variance en vue de comparer des réponses sensorielles de la viande sous l'influence de différentes stratégies de conservation (Kiermeier et al., 2013; Ruiz Capillas & Jiménez Colmenero, 2010), les analyses de corrélation pour évaluer la relation entre réponses (Fontana et al., 2016; Senter et al., 2000), l'analyse en composante principale pour identifier d'éventuelles relations entre produits et réponses (Kuuliala et al., 2018), etc. ; et (ii) des méthodes à finalité prévisionnelle visant à formaliser le phénomène sous forme de modèles mathématiques. Historiquement, une des premières applications des modèles mathématiques s'est faite dans la discipline appelée « Microbiologie prévisionnelle » née au cours du 20$^{\text{ième}}$

siècle, destinée initialement à décrire de manière ciblée l'évolution de la concentration de certains microorganismes pathogènes en vue d'une évaluation de la sécurité des aliments, puis étendue ensuite à la prévision de leur qualité (Baranyi & Roberts, 1995; McMeekin et al., 2007; Olley & Quarmby, 1981; Spencer & Baines, 1964). Une application de la microbiologie prévisionnelle dans l'étude de l'altération consiste à la prédiction des réponses (par exemple la croissance) de différents microorganismes présents en abondance au moment de l'altération, appelés « organismes altérants spécifiques » (*« Specific Spoilage Organisms », SSO*), ou connus comme étant responsables de l'altération, en vue de déterminer une « durée de vie » (*« shelf-life »*) de l'aliment (Devlieghere et al., 2000; Manios et al., 2014; McKellar & Lu, 2004). A la différence de ce type d'études ciblées, la difficulté majeure dans la modélisation de l'altération de la viande fraîche est liée à la prise en compte de la complexité du microbiote naturellement présent et au fait que l'origine de l'altération n'est pas connue *a priori* et que certains groupes de microorganismes (comme des bactéries lactiques) peuvent jouer à la fois un rôle protecteur et altérant (Jääskeläinen et al., 2016; Osés et al., 2015; Woraprayote et al., 2016). Aujourd'hui, la détermination de la structure du microbiote présent sur un aliment est de plus en plus facilitée par les techniques de séquençage haut-débit (Cao et al., 2017; Cardinali et al., 2017). Ces techniques donnent accès à une vision beaucoup plus complète de la composition du microbiote qui présente souvent une diversité importante de microorganismes qui sont tous susceptibles d'être responsables de l'altération. Les réponses microbiologiques associées au microbiote deviennent multiples et font émerger ainsi la nécessité d'utiliser des approches d'analyses de données multivariées appropriées afin d'identifier les structures essentielles dans les données et de réduire les réponses qui ne contribuent pas nécessairement à l'altération. Enfin, identifier d'éventuelles relations entre différents types de réponses dans les études d'altération (microbiologiques, physicochimiques et sensorielles), demande ainsi l'utilisation de méthodes d'intégration de ces données dites « hétérogènes », également appelées méthodes de « fusion de données » ou « couplage de tableau de données » (Holm et al., 2013; Jiang & Bratcher, 2016; Nieminen et al., 2016). Ces méthodes permettent d'aller plus loin dans la compréhension des potentiels liens de causalité entre le développement des microorganismes et les composés volatils issus de leurs activités et susceptibles de causer l'altération.

Objectif du projet de thèse

Au vu de tous les points mentionnés ci-dessus, l'objectif de ce projet de thèse portait sur le développement de différents outils de modélisation statistique afin de mieux comprendre le phénomène d'altération microbiologique des produits carnés, caractérisée par différentes mesures microbiologiques, physicochimiques et sensorielles et sous l'influence de deux stratégies de préservation. Les saucisses fraîches de porc et de volaille ont été choisies comme

cas d'étude. Les deux stratégies de préservation choisies étaient la formulation en lactate de potassium et le conditionnement sous atmosphère protectrice. Ces travaux de thèse s'inscrivent dans le cadre d'un projet de recherche pluridisciplinaire financé par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) dont la finalité ultime était de réduire la perte liée à l'altération de la viande.

Structure générale du manuscrit

Ce manuscrit retraçant les différentes étapes d'étude de ce projet de thèse est structuré en différents chapitres comme suit :

- Le chapitre I présente l'état de l'art des études de l'altération microbiologique des produits carnés. Ce chapitre est constitué de deux parties. Dans la partie I.A, une revue bibliographique été réalisée afin d'identifier les mesures d'altération et les stratégies de maîtrise couramment étudiées dans la littérature, ainsi que d'étudier l'influence des stratégies les plus étudiées sur l'apparition de l'altération via une analyse quantitative des données bibliographiques. Cette partie a fait l'objet d'une valorisation sous forme d'une revue publiée dans le journal *« Microorganisms »*. (Luong et al. 2020a). La partie I.B consiste en une synthèse bibliographique portant sur des approches de modélisation et d'analyses de données utilisées dans les études de l'altération.

- Le chapitre II décrit l'ensemble de toutes les données expérimentales collectées et utilisées dans ce projet de thèse. L'ensemble de ces données a été publié dans le journal *« Data in Brief »* sous forme d'un article de données (*« data paper »*) (Poirier et al., 2020).

- Le chapitre III concerne une première étude exploratoire des effets de la formulation en lactate et de l'atmosphère protectrice sur quelques mesures courantes de l'altération sur les deux types de saucisses. Pour ce faire, un modèle à effet mixte a été utilisé pour étudier ces effets tout en prenant en compte l'effet aléatoire lié à la variabilité biologique issue des lots produits à l'échelle industrielle. Cette étude a fait l'objet d'une valorisation sous forme d'un article de recherche publié dans le journal *« Food Research International »* (Luong et al. 2020b). Le caractère dynamique de l'altération observé dans cette étude a conduit pour les chapitres suivants à la conception de modèles dynamiques.

- L'étude réalisée dans le chapitre IV se focalise sur la modélisation de la dynamique d'une réponse d'altération (évolution du pH) de saucisses de volaille sous l'influence de la formulation en lactate et de l'atmosphère protectrice. Pour ce faire, un modèle hiérarchique a été développé pour décrire la dynamique du pH et une approche

d'inférence bayésienne a été utilisée pour l'estimation des paramètres en prenant en compte des informations *a priori* sur ces derniers. Cette étude a fait l'objet d'une valorisation sous forme d'un article de recherche soumis dans le journal *« International Journal of Food Microbiology (a) »*.

- L'analyse présentée dans le chapitre V cherche à établir un lien entre les conditions physicochimiques et microbiologiques de saucisses de volaille au temps de suivi initial et la dynamique de l'altération subséquente afin de déterminer si les conditions initiales suffisent à prédire l'altération. Pour ce faire, trois approches de régression multivariée combinées avec un modèle dynamique non linéaire ont été développées et comparées.

- Le chapitre VI consiste donc en une application d'une approche d'intégration de données Multi-block afin de mieux comprendre les liens de causalités entre le microbiote, le volatilome et le profil sensoriel des saucisses de volailles à tous les temps de stockage. Cette partie du travail a fait l'objet d'une valorisation sous forme d'un article de recherche, soumis dans le journal *« International Journal of Food Microbiology (b) »*.

Enfin, une dernière partie du manuscrit est consacrée à la discussion des principaux résultats obtenus dans ce projet de thèse ainsi qu'aux perspectives.

Chapitre I : Etat de l'art

Préambule

Ce chapitre correspond à l'état de l'art de l'étude de l'altération microbiologique des produits carnés ainsi que des approches de modélisation utilisées pour étudier l'altération. L'enjeu du chapitre était de réaliser une synthèse des méthodologies expérimentales pour mesurer les différents types d'altération de tout type de viande, des stratégies mises en place pour maîtriser l'altération et enfin de faire la synthèse des approches de modélisation et d'outils statistiques utilisées dans le traitement des données expérimentales pour comprendre et décrire le phénomène d'altération. Ce chapitre est structuré comme suit :

- la partie I.A correspond à une revue systématique sur les mesures d'altération des produits carnés et les stratégies de maîtrise étudiées dans la littérature, via une procédure de collecte de données bibliographiques. La finalité de cette revue consistait à réaliser une analyse d'une sous-partie de données quantitatives collectées afin d'étudier l'influence globale des stratégies les plus utilisées sur quelques indicateurs microbiologiques de l'altération pendant le stockage. Cette revue a été publiée dans le journal « Microorganisms » ;
- la partie I.B porte sur la présentation de différentes approches couramment utilisées pour la modélisation et l'analyse statistique de données expérimentales en vue de décrire le phénomène d'altération ;
- et enfin, les questions scientifiques ainsi que la stratégie d'analyse globale de ce travail de thèse seront présentées à la fin de ce chapitre.

Partie I.A – Mesure de l'altération et stratégies de préservation : Revue

Spoilage of chilled fresh meat products during storage: A quantitative analysis of literature data

Ngoc-Du Martin Luong[1], Louis Coroller[2], Monique Zagorec[1], Jeanne-Marie Membré[1] and Sandrine Guillou[1,*]

[1] SECALIM, INRAE, ONIRIS, Université Bretagne Loire, Route de Gachet, CS 40706, F-44307 Nantes, France

[2] Université de Brest, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne, UMT Alter'ix, F-29334 Quimper, France

[*] Correspondence: Sandrine Guillou (sandrine.guillou@oniris-nantes.fr);

Abstract

A literature search was performed on spoilage of fresh meat products by combining keyword query, text mining and expert elicitation. From the 258 collected studies, a quantitative analysis was first performed to identify the methods which are the most used to evaluate spoilage beside the preservation strategies suggested. In a second step focusing on a subset of 24 publications providing quantitative data on spoilage occurrence time, associations between spoilage occurrence time of meat products and specific spoilage indicators were investigated. The analysis especially focused on factors well represented in the 24 publications, i.e., gas packaging (O2 and CO2) and storage temperature. Relationships between spoilage occurrence and several microbiological indicators were also sought. The results point out possible advantages of removing dioxygen in packaging to delay spoilage occurrence, whereas, in the presence of dioxygen, the carbon dioxide proportion in the gas mixtures was shown to influence spoilage occurrence. The collected data clearly reveal a potentially protective role of lactic acid bacteria. Besides, while a spoilage role could be attributed to Pseudomonas spp., the growth of mesophilic aerobic microbes, Brochothrix spp. and Enterobacteriaceae seemed independent of spoilage occurrence time.

Keywords: microbiological spoilage; modified atmosphere packaging; storage temperature; expert knowledge; text-mining; data analysis

1 Introduction

Meat products are an excellent source of valuable nutrients for human consumption, such as animal protein, phosphorus, zinc and iron (Bohrer, 2017; Henchion et al., 2014). The

global consumption of meat products in 2015 was estimated at 41.3 kg per capita (bovine meat at 10.1 kg per capita, ovine and caprine meat at 2.1 kg per capita, pork meat at 15 kg per capita (excluding China) and poultry meat at 13.8 kg per capita) (FAO, 2015). However, an important portion of meat and meat products are also lost or wasted every year. These annual losses represent approximately 20% of the initial meat production (304.2 million tons). These losses are essentially due to spoilage, characterized by a decrease in the sensory quality of the meat products (Gram et al., 2002). There is a diversity of spoilage characteristics in meat products for consumers, such as changes in aspect (texture, slime or liquid production), various colour deteriorations or off-odours (Borch et al., 1996; Dainty & Mackey, 1992). These spoilage defects generally take place by different mechanisms. Meat spoilage can be caused by natural processes in meat, such as lipid oxidation (Gray, 1978; Love & Pearson, 1971) or autolytic enzymatic reactions in the muscle cells of the animal after slaughtering (Tauro et al., 1986). However, the major cause of spoilage is the unavoidable contamination by microorganisms (essentially bacteria) during the processing of animals into meat products (Cerveny et al., 2009) and their subsequent growth and metabolic activities during storage. Each processing step can influence microbial contamination, and storage conditions can shape the structure of bacterial communities, consequently impacting the occurrence of microbial spoilage over time (Dave & Ghaly, 2011).

Spoilage may shorten meat product shelf-life and lead to their rejection by consumers because quality expectations are not met (Dousset et al., 2016). Spoilage of products of animal origin has been recently reviewed (Odeyemi et al., 2020). In the latter paper, microorganisms associated with meat and dairy product spoilage are reviewed and factors influencing spoilage such as temperature, pH, salt and packaging atmosphere are described. However, the effects of factors are sometimes difficult to interpret since experimental conditions and food matrices may differ tremendously between studies. The aim of the present study was to collect studies through a rigorous procedure to perform a review of meat spoilage, in an ultimate objective to provide a quantitative analysis of the effects of selected processing factors on spoilage occurrence. First, studies were gathered by using both keyword search, expert elicitation and text mining. Second, from relevant selected studies, a quantitative analysis of the literature was performed on the methods generally used to monitor meat spoilage and preservation strategies suggested. At last, from a subset of publications providing quantitative data on spoilage over time, associations between spoilage occurrence time of meat products and specific spoilage indicators were investigated, highlighting the effects of storage temperature, dioxygen and carbon dioxide in Modified Atmosphere Packaging (MAP) on spoilage.

2 Material and methods

2.1 Query process of literature data

Our bibliographic search aimed to collect relevant data associated with microbiological spoilage of meat products from scientific literature. A preliminary search from the Science Direct database, based on three main keywords (*"meat" AND "microbiology" AND "spoilage")* in full-text, provided more than 8000 records. However, these records were mostly not relevant, since many of them were studies on pathogens in meat or in other food products (seafood, vegetables, etc.). Thus, an alternative procedure, combining expert opinion and data mining, was adopted for identifying the relevant keywords for search query functions.

The procedure used to extract relevant keywords for query functions is detailed in Figure I. 1. First, 63 publications were initially provided by experts. Afterwards, the keyword extraction from the full text of these 63 publications was done using a text mining approach (Huang & Lu, 2016; Onan et al., 2016) using the *tm* R package (Feinerer & Hornik, 2018). This approach extracted the most relevant terms after different text treatment steps (filtering, categorisation) based on correlations between terms, i.e., the occurrence frequency of multiple keywords in the same article (Onan et al., 2016). The extraction was carried out following the procedure outlined by Williams, (2016). The text mining of 63 publications provided an output of 18 relevant keywords. The data searches were carried out afterwards using advanced searches of full texts in two scientific platforms: Science Direct and Web of Science. While query functions required the *"AND"* function for the three principal keywords, (*"meat", "microbiology" AND "spoilage"*), all supplementary extracted keywords were added with the *"OR"* option. The keyword and search function used were thus written as follows:

*FULL-TEXT (meat * AND spoil * AND microbiology * AND (Brochothrix OR community OR data OR food OR lactate OR "lactic acid bacteria" OR "modified atmosphere packaging" OR odor OR psychrotroph * OR Pseudomonas OR volatile OR salt OR sodium OR refrigerated OR yeast)).*

The latest query process using those above-mentioned keywords was performed in July 2019 and identified 1622 records. Afterwards, these records were filtered in accordance with the PRISMA Statement Guidelines (Moher et al., 2009) (Figure I. 1). Different criteria were used to exclude non-relevant publications after several stages of screening: (i) selecting from databases: only research journal articles were kept (book chapters, short communications and other article types were excluded) and duplicates from databases were removed; (ii) screening using titles: only studies on meat products in research articles were kept; (iii)

screening using abstracts: review articles, studies exclusively on pathogenic bacteria in meat products and ready-to-eat foods were excluded; and (iv) removing duplicates already provided by experts.

After the screening using titles and abstracts, there were 243 research articles reporting microbiological spoilage in meat products, to which the 63 experts' articles were added. After the removal of 20 duplicates, the remaining 278 articles were filtered, while removing reviews and studies specifically concerning modelling strategies, giving in total 258 articles. The overview of methods of spoilage characterisation and preservation strategies was performed based upon these 258 publications. Then, in a more quantitative part, a subset of publications was performed to calculate what we called the spoilage occurrence time in selected publications providing quantitative data related to spoilage over time. In this respect, only studies in which sensorial evaluations were performed on meat products stored at temperatures between 0 and 12 °C were kept. Next, we removed studies in which the time interval between two sensory evaluations exceeded three days. This interval was arbitrarily chosen to approximate the determination of spoilage occurrence time with a maximum error margin of three days.

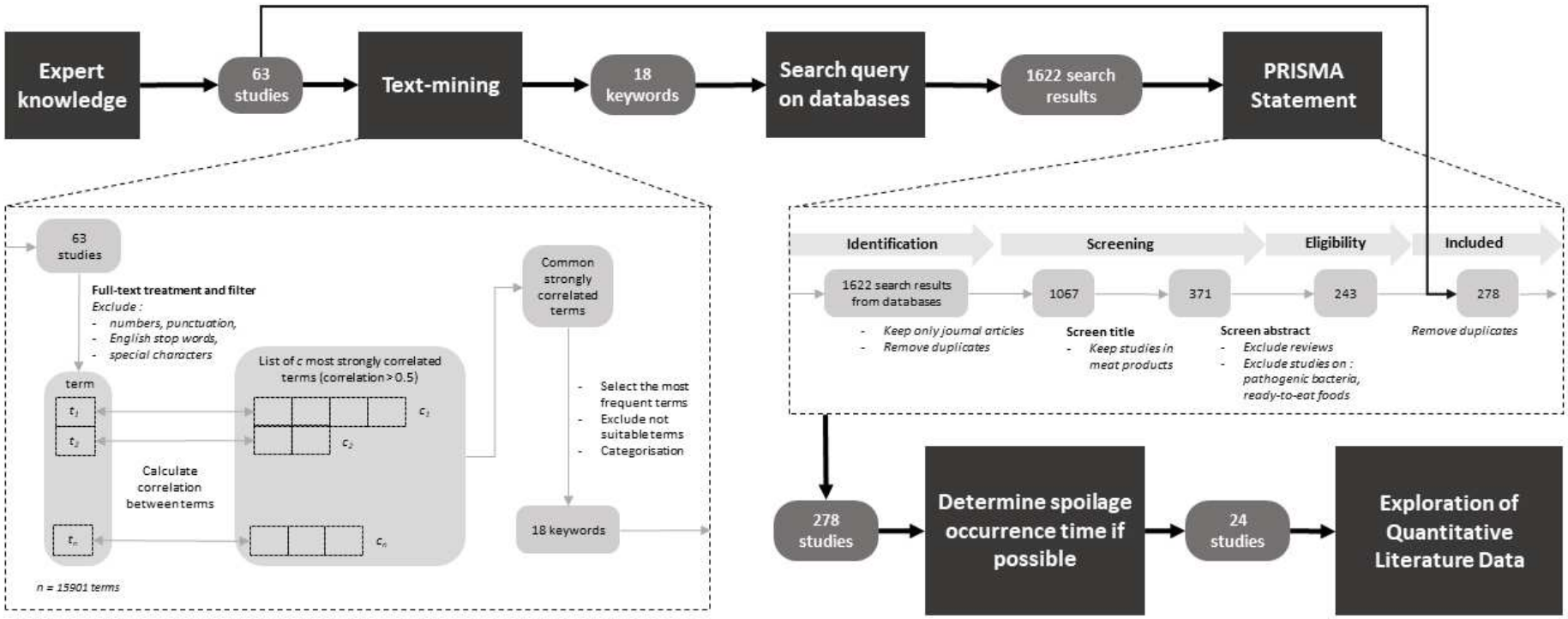


Figure I. 1 Flow chart outlining the procedure for quantitative data collection from the literature

2.2 Collection of quantitative data associated with spoilage occurrence in meat products

2.2.1 Determination of spoilage occurrence time

In each study, based on the characterisation of organoleptic defects by scores (appearance, colour, odour and flavour), the spoilage occurrence time was calculated as the time at which the considered scores exceeded a preliminary threshold value chosen by the authors. In cases where experimental sampling was carried out daily, we considered the observed spoilage occurrence time as the exact sampling time point. Otherwise, in cases where spoilage was observed after a two- or three-day interval between consecutive sampling times, spoilage was assumed to occur between the two sampling time points, and the spoilage occurrence time was considered as the median value of this interval (expressed in days).

2.2.2 Factors considered as influencing spoilage

In the 24 selected studies, a multifactorial design, i.e., combination of several factors, was followed. The considered factors were the type of meat products, storage temperature, initial gas composition (percentage of dioxygen, carbon dioxide and inert gases such as nitrogen or argon) of the packaging headspace (air, modified atmosphere packaging and vacuum-packaging). Hence, combinations of factor levels constituted different initial experimental conditions. For example: a study i on two types of meat products stored under three different modified atmospheres constituted six initial experimental conditions ($n_i = 6$). In each study, the spoilage time was then estimated from multiple replicates, based on the criteria from sensory analyses detailed in the above section.

2.2.3 Microbiological data

Microbiological data associated with spoilage were collected from the selected studies. High throughput sequencing data were provided in some studies, but this type of information was not available often enough to be considered for the present study. Therefore, we considered only enumeration data acquired by conventional cultural methods for the five most studied microbial indicators, i.e., total mesophilic aerobic counts, lactic acid bacteria (LAB), *Brochothrix* spp., *Pseudomonas* spp. and *Enterobacteriaceae*. For each initial experimental condition, we determined the count of each microbial indicator observed at the spoilage occurrence time. If experimental sampling was carried out daily, we considered the bacterial count as the value observed at the sampling time point. Otherwise, if spoilage was observed after a two- or three-day interval between consecutive sampling times, the bacterial count at the spoilage occurrence time was considered as the average count observed at the two sampling time points.

The gathered dataset used for quantitative analyses included the following for each initial experimental condition: meat type, storage temperature (°C), initial composition of the atmosphere packaging (initial percentage of dioxygen and carbon dioxide), the corresponding spoilage occurrence time (days) and the bacterial count observed at the spoilage occurrence time (log CFU/g).

2.3 Statistical analyses

The symmetrical Gaussian distribution of different studied variables, such as spoilage occurrence time, storage temperature or bacterial counts, were tested using the Shapiro–Wilk test. The evaluation of the difference between two groups following Gaussian distributions was performed using the Student's t-test; otherwise, the non-parametric Wilcoxon rank sum test for non-Gaussian distributions was used. The difference between more than two groups was tested using ANOVA and Kruskal–Wallis rank sum tests for variables following Gaussian and non-Gaussian distributions, respectively. Correlation between variables was evaluated using non-parametric Spearman's rank correlation test.

Pearson's chi-squared tests were performed to evaluate differences between the observed and expected frequencies in contingency tables summarizing relationships between different variables. All statistical analyses were performed with the R program (R Core Team, 2017). All graphs were created using the *ggplot2* R package (Wickham, 2009).

3 Results and discussion

3.1 Measurement of spoilage in meat products and control strategies

3.1.1 Types of meat and meat products associated with spoilage

As mentioned previously, the bibliographic search provided a set of 278 original research articles from 1984 to 2018 considered in our review on microbiological spoilage in meat products (Table I. S 1). The most studied meat matrices corresponded to products from pork (117), beef (83) and poultry (54) (chicken or turkey) meats. The remaining meat matrices corresponded to lamb (21 studies), venison, goat, llama, foal or rabbit (fewer than five studies). Considering all meat matrices, the most studied meat types corresponded to fresh meats such as fillets, ground meats, strips, legs, carcasses, etc. (175 studies). Processed meats such as fresh sausages, dry or fermented sausages, mixed sausages, carpaccio, etc. were studied in 62 studies. Only 40 studied considered cooked meat products such as cooked ham or smoked sausages.

3.1.2 Measurement of spoilage in meat products

The exploration of all studies suggested a very important number of possible approaches for measuring spoilage. The most common methods of spoilage assessment were found to be classified in different categories: microbiological analysis, sensorial analysis and physicochemical analyses. Figure I. 2 illustrates the evolution of spoilage measurement among publications over the years.

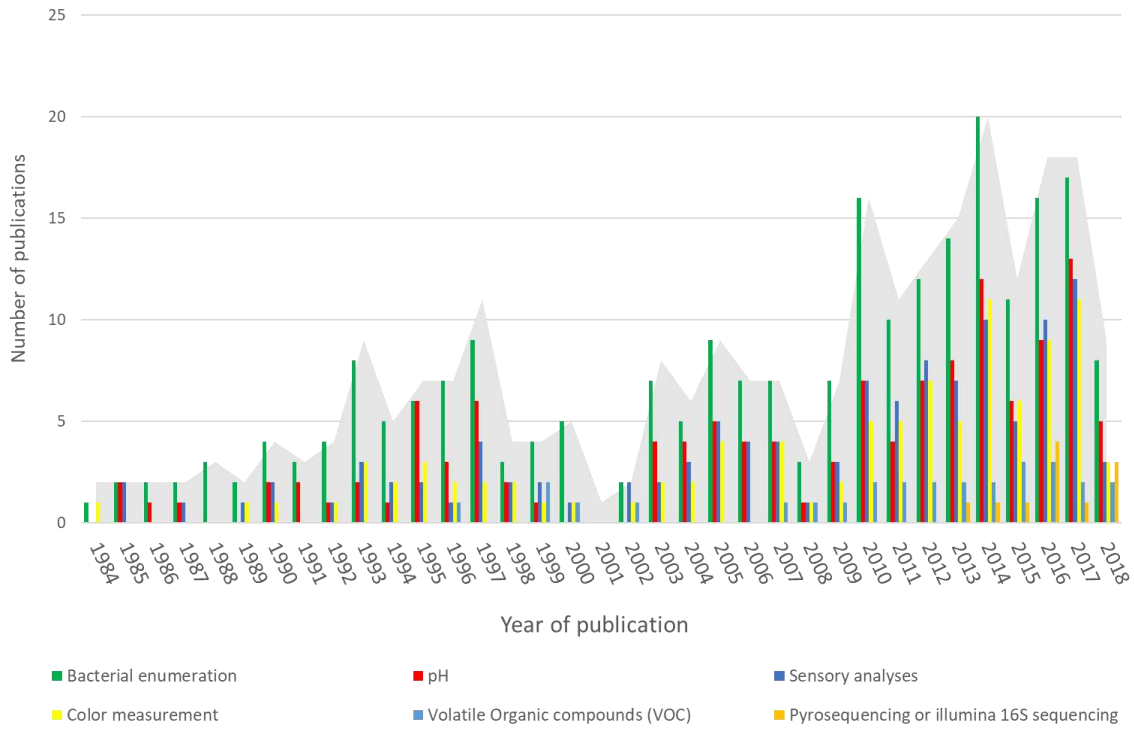


Figure I. 2 Publications considered in the review and evolution of approaches of spoilage assessment

It appears that microbiological analyses remained the preferred strategy of spoilage assessment over the years. It especially concerns enumeration of bacterial groups. In recent years, recent high-throughput technologies involving 16S DNA amplicon sequencing has emerged but regarding our dataset, it still corresponds to a limited number of publications. Besides, sensory analyses have always represented a large part of the responses studied while considering spoilage.

i. Microbiological analysis

Enumeration of microbial groups by using conventional cultural methods on selective or nonselective agar plates, has constituted the unmissable method for assessing food spoilage. Bacteria were more largely enumerated than moulds and yeast (46 studies). The most studied bacterial groups corresponded to Lactic Acid Bacteria (173 studies), total mesophilic aerobic bacteria (TAMB) (162 studies), *Enterobacteriaceae* (113 studies), *Pseudomonas* spp. counts (89 studies), *Brochothrix* spp. (81 studies) and coliforms (46). Psychrotrophic aerobic counts, total anaerobic counts, psychrophilic bacteria or *staphylococci* were less frequently

monitored (between 19 and 46 studies), whereas other specific bacterial groups such as proteolytic bacteria (2), *Leuconostoc* (3), *enterococci* (8), H_2S-producing bacteria (7), *Micrococcaceae* (6), or *Aeromonas hydrophila* (2) were scarcely monitored.

Isolate identification was performed in 70 studies plates mainly by genotyping methods such as molecular fingerprinting approaches using restriction enzymatic profiles such as Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE); Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) or ribotyping; or DNA amplification such as Random Amplified polymorphic DNA (RAPD) and Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). These methods have been gradually replaced by sequencing of the 16S gene. Only two studies performed in 2016 and 2018 used mass spectrometry identification MALDI-TOF for isolate identification (Hilgarth et al., 2018; Höll et al., 2016). At last, characterizing microbiological communities in meat products has been nowadays facilitated by several emerging high-throughput sequencing techniques. Eleven studies from 2013 used this technology to assess semi-quantitively and identify the bacterial communities in meat products (Benson et al., 2014; Fontana et al., 2016; Fougy et al., 2016; Hilgarth et al., 2018; Kiermeier et al., 2013; Mann et al., 2016; Raimondi et al., 2018; Rouger et al., 2018; Säde et al., 2017; Stellato et al., 2016; Stoops et al., 2015).

Phenotypic characteristics of isolate have been assessed in several studies either in pure culture or by re-inoculating the isolated strains in the products (41 studies). Apart from evaluating the organoleptic properties of inoculated products to confirm or invalidate the spoiler nature of the isolate, other more specific characteristics could be determined. Growth modeling was performed in 35 studies, mainly by using the Gompertz and Baranyi models. Acidification profiles of meat products were widely studied by pH monitoring or measurement of lactic acid (Fontana et al., 2016; Vermeiren et al., 2004). Proteolytic, lipolytic or other potential metabolic activities assumed to be associated with a priori spoilage-responsible microorganisms were also measured in some studies (Ercolini et al., 2010; Fontana et al., 2016). Few studies also applied microbial Time Temperature Indicator (TTI) prototype for monitoring spoilage, based on the growth and metabolic activity of specific microorganisms (Ellouze & Augustin, 2010; Vaikousi et al., 2009). The decomposition zone diameter (DZD) profiles of different microorganisms could be monitored to assess their potential spoilage ability (G. Wang et al., 2017). Finally, some rare studies investigated other microbial abilities such as antibiotic resistance, salt tolerance, metabolite production (lactate, ethanol, glucose, etc.) as well as antibacterial activity towards pathogens (Nowak et al., 2012; Vermeiren et al., 2004).

ii. Evaluation of the organoleptic quality

Based on our dataset, sensory analyses were identified as the most used approaches for evaluating the organoleptic quality of meat products (in 45% of all studies), probably

because sensorial profiles are close to spoilage perception by consumers. In general, these approaches consist to determine the acceptability of food products by a panel constituted of several members. The number of members in the panel can vary from one study to another (Ntzimani et al., 2010; Triki et al., 2013). Depending on the types of meat (raw or cooked meats, red or white meats), the panel generally trained during preliminary sessions, determines different possible hedonic scales in order to evaluate organoleptic descriptors to be scored (intensity of off-odours or visible discoloration in fresh meats or general appearance as well as off-flavour for cooked products) (Vasilatos & Savvaidis, 2013; Vestergaard et al., 2007). A global score can be given afterwards to evaluate spoilage occurrence and intensity of the products using an acceptability rule, for example an arbitrary threshold value chosen by the panel in the used hedonic scale (del Río et al., 2007).

In addition to the use of sensory analyses, the organoleptic quality of meat products can also be evaluated using specific measurement instruments. For instance, we can cite the CIE Lab colour system which is widely used for measuring colour of meat products (Lorenzo & Gómez, 2012; Luño et al., 1998; Muermans et al., 1993; Ortuño et al., 2015). Other measurements can also be carried out such as tenderness and texture (e.g., shear force) of beef steaks (Murphy et al., 2013); the weight loss during meat dry-aging, cooking or storage (Ahnström et al., 2006; Torrieri et al., 2011); exudate volume in packages as well as package volume (blowing properties) (Bell et al., 2001; Broda et al., 1996; Ortuño et al., 2015); or multispectral imaging assessment of meat surface for monitoring spoilage during storage (Tsakanikas et al., 2016).

iii. Evaluation of physicochemical properties

The physicochemical response measured in half of studies is pH (Figure I. 2) since it reflects both bacterial growth and alteration of taste and flavour. Moreover, it is easy to measure and does not require any specific equipment. Activity water is more rarely measured (in 17 studies).

Other types of physicochemical responses can also be monitored in meat products in order to evaluate indirectly microbiological properties of meat products, assuming that microbiological spoilage results from metabolic activities of microorganisms. The most used responses corresponded to the identification and quantification of volatile organic compounds (VOCs) (Argyri et al., 2015; Casaburi et al., 2015; Holm et al., 2013). Volatile fingerprints from microbial activities in meat products could also be monitored using electronic noses for rapid assessment of meat quality (Blixt & Borch, 1999; Papadopoulou et al., 2011). Biogenic amines (BA) responsible for allergenic reactions were also sometimes monitored since their production is due to bacteria producing amino acid decarboxylases likely to induce meat spoilage (Fontana et al., 2016; Li et al., 2014; Pellissery et al., 2019). Other chemical indicators for predicting the microbial quality of meat may also been measured even if it is

less frequent, for example volatile amines by the total volatile basic nitrogen (TVB-N) or trimethylamine nitrogen (TMA-N) methods (Balamatsia et al., 2007; Kuswandi & Nurfawaidi, 2017). Gas composition in products packaging such as O_2 and CO_2 was measured in 38 studies since these gases could be absorbed or produced by microorganisms, and also because they are added in Modified Atmosphere Packaging (MAP) (Riel et al., 2017; Rodrigues et al., 2017). Myoglobin oxygenation and redox state, assessment of lipid oxidation by the TBARS method (Thiobarbituric acid reactive substances) are other methods that are used because they may be associated with organoleptic properties such as taste, odour, flavour or colour.

3.1.3 Preservation and spoilage control strategies

i. Active and modified atmosphere packaging

Figure I. 3 illustrates the preservation strategies which have been studied in the collected dataset. The improvement in the characteristics of packaging for meat products were identified as the most common used strategies for preventing spoilage during storage. According to our dataset, in more than 50% of publications, meat products were conditioned under MAP. Vacuum packaging was often the other type of packaging under investigation. MAP consists in the replacement of the atmosphere surrounding the product by mixed gas compositions of O_2, CO_2, N_2 and CO, as well as inert gases such as Ar. In general, the common gas compositions correspond to balances between O_2 or CO_2, since high O_2 concentrations are useful for red meat colour stabilization (Ercolini et al., 2007; Jakobsen & Bertelsen, 2002; Tremonte et al., 2005), and increasing CO_2 in MAP is useful for inhibiting microbial growth (Höll et al., 2016; McMillin, 2008). In addition to MAP, some innovative methods of active packaging were also highlighted, either by injecting vapours of essential oils inside the package (Skandamis & Nychas, 2002) or impregnating the film with essential oil (Ammor et al., 2009; Argyri et al., 2011; Blana & Nychas, 2014; Doulgeraki et al., 2010, 2011; Doulgeraki & Nychas, 2013; Nowak et al., 2012; Ntzimani et al., 2010; Sirocchi et al., 2017). The use of biodegradable nanocomposite packaging films containing TiO_2 and rosemary essential oil (Alizadeh Sani et al., 2017), the adjustment of oxygen permeability for the films (Cayré et al., 2005), the supercritical carbon dioxide (SC-CO_2) treatment on the inactivation of the natural microbial growth (Ferrentino et al., 2013) or chitosan/cyclodextrin treatment for packaging films (Higueras et al., 2014) were also studied.

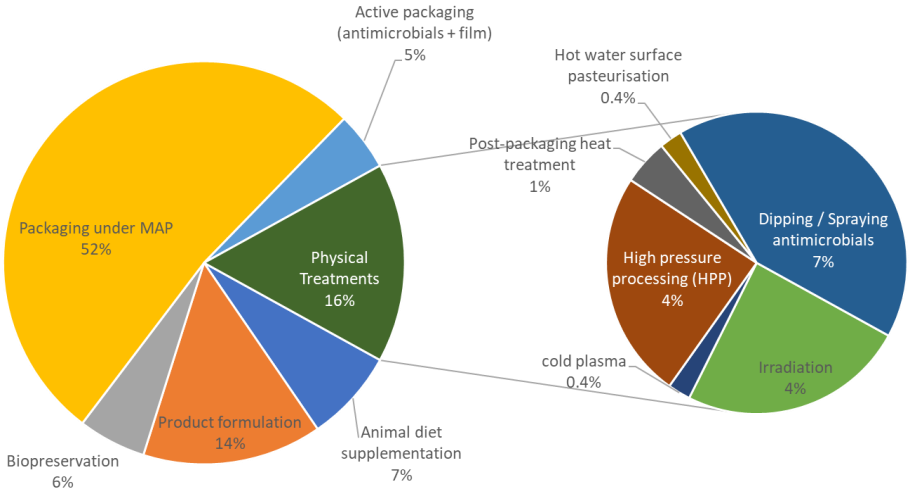


Figure I. 3 Main preservation strategies identified in collected studies

ii. Formulation

Formulations of meat products was identified as a commonly studied strategy to prevent spoilage (used in 37 of 258 studies). Antimicrobial compounds susceptible to influence positively spoilage-related responses were used, mainly organic acids such as lactate, marinades, preservatives such as nitrites and essential oils. Many studies focused on the effects induced by lowering the concentration of food additives and/or replacing them by "clean" compounds. Some examples of formulation applications for preserving meat products are shown in Table I. 1.

Table I. 1 Application of formulation for preserving fresh meat and processed meat products.

Formulations	**Meat products**	**Observed effects**	**References**
Oregano essential oil	Chicken liver meat	Maintenance of freshness and sensorial quality, limitation of lipid oxidation	Hasapidou and Savvaidis (2011)
Cinnamon essential oil	Pork meat	Increase of microbial shelf life but unacceptable discoloration in high-oxygen atmosphere	Van Haute et al. (2017)
Rosemary extract or oil	Fresh pork sausages	In combination with chitosan, extension of shelf-life of meat products; inhibition of lipid oxidation and rancidity	Georgantelis et al. (2007)
Parsley extract	Mortadella-type sausages	Inhibition of L. monocytogenes; improvement of overall appearance (colour, cohesiveness, taste, aroma and saltiness)	Riel et al. (2017)
Microencapsulated jabuticaba extract (MJE)	Fresh sausages	Natural dye used in replacement of commercial while maintaining antioxidant and antimicrobial activity and sensory acceptance	Baldin et al. (2016)
Satureja montana L. essential oil	Mortadella-type sausages	Antioxidant activity	Coutinho de Oliveira et al. (2012)
Mixed spices and marinade (various ingredients and preservatives)	Beef (minced meats or steaks; pork meat	Alteration of microbial counts due to preservative addition with decrease of microbial diversity dominated by L. algidus and Leuconostoc sp. irrespective of the preservative tested. Glucose and packaging under oxygen in favor of spoilage.	Stoops et al. (2015); Vihavainen and Björkroth (2007)

Formulations	**Meat products**	**Observed effects**	**References**
Chitosan	Pork (loins, burgers, sausages); turkey and chicken breasts	Extension of shelf-life of low-sulphite burgers and turkey fillets, with synergistic effect on low dose sulphite or rosemary oil on spoilage prevention.	Serrano and Bañón (2012); Vasilatos and Savvaidis (2013)
Sodium nitrite	Minced beef	Combined with essential oil stabilization of red meat color even at low dose; inhibitory effect on bacterial growth, control of lipid oxidation.	Coutinho de Oliveira et al. (2012); Sadler and Swan (1997)
NaCl	Pork (loins, ground meat, ham, sausages)	Acid and exudate production following salt reduction, combination of MAP and low salt concentration correlated with sulfurous off-odors and higher spoilage than under vacuum, Maintenance of bacterial richness, inhibition of pathogens. Inhibition of growth of Aeromonas hydrophila at 3%.	Fougy et al. (2016); Gill and Holley, (2003); Palumbo (1988); Samapundo et al. (2010)
EDTA	Beefsteaks; chicken (breasts, liver meat)	Combined to oregano essential oil and MAP extended the shelf-life of fresh chicken liver.	Hasapidou and Savvaidis (2011)
Lysozyme	Synthetic media (target products: processed ham and bologna)	B. thermosphacta inhibited by 500 mg/l or less lysozyme. Lysozyme also effective against P. acidilactici, En. faecalis and W. viridescens.	Gill and Holley (2003)
Vinegar, acetic acid	Pork sausages, fresh pork	Bacteriostatic properties of vinegar/sodium lactate mixture with reduced bacterial growth. CO_2, citric acid and acetic acid reduced total growth.	Crist et al. (2014); Schirmer and Langsrud (2010)

Formulations	**Meat products**	**Observed effects**	**References**
Lactate	Pork sausages, pork meat, chicken fermented sausages	Lactate-diacetate altered the dynamics dramatically, yielding growth of a single species of Lactobacillus (L. graminis). Psychrotrophic, coliform and lactic acid bacteria retarded by lactate. No effect on sensory properties. Shelf-life extension. Synergistic effect between lactate and carbon dioxide. No or slight effect on color. Reduced effect with increased level of fat.	Benson et al. (2014); Bradford et al. (1993); Deumier and Collignan (2003); Devlieghere et al. (2000); Friedrich et al. (2008); Guillou et al. (2016); Magrinyà et al. (2015)
Polydextrose/glucose supplement	Hot-boned, mixed hindquarter cuts; minced beef	Increase of functionality properties of batters made with pre-rigor salted mince with added Polydextrose@. Similar composition and bacterial numbers in mince supplemented with glucose. Glucose, glucose 6-phosphate and lactic acid consumed at slower rates by the flora under MAP than in air.	Lambropoulou et al. (1996); Sadler and Swan (1997)

iii. Physical treatments

Physical treatments corresponded to 16% of the studies, mainly the application of innovative treatments, such as High Pressure Processing (HPP) (Guillou et al., 2016; Lerasle et al., 2014; Masana et al., 2015; Patterson et al., 2010), treatments with aqueous ozone and electrolyzed water (Botta et al., 2018) as well as irradiation (Farkas & Andrássy, 1993; Gamage et al., 1997; Grandison & Jennings, 1993; Kamat et al., 1997; Lacroix et al., 2000, 2002; Min et al., 2007; Nortjé et al., 2005; Sørheim et al., 1999; Xavier et al., 2014) and the use of cold plasma treatment (J. Wang et al., 2016). Other treatments relative to addition of antimicrobials (urea, nisin, chitosan, oregano essential oil, lactate, etc.) by dipping or spraying the product were also studied as decontamination treatments or more generally as means of extending the shelf-life (del Río et al., 2007; Djenane et al., 2003; Economou et al., 2009; Geeraerts et al., 2017; Greer & Dilts, 1995; Guerrero et al., 1995; Latou et al., 2014; Narasimha Rao & Sreenivasamurthy, 1986; Nattress & Baker, 2003; Paparella et al., 2016; Pavelková et al., 2014; Petrou et al., 2012; Vasilatos & Savvaidis, 2013; Zeitoun & Debevere, 1990, 1991).

Other applications based on the influence of temperatures on spoilage have also been investigated such as rapid chilling, critical for meat hygiene, safety, shelf-life and nutritional quality (Dave & Ghaly, 2011; Zhou et al., 2010), heat treatment at different processing steps (Linda Saucier, 2016) or hot water surface pasteurization (Hauge et al., 2011).

iv. Bio-preservation

The use of controlled microbiota or antimicrobial flora for preserving meat during storage (principle of the bio-preservation) was reported in 14 studies (da Silva Sabo et al., 2017; Deumier & Collignan, 2003; Fontana et al., 2016; A. O. Gill & Holley, 2003; Kalschne et al., 2014; Noonpakdee et al., 2003; Osés et al., 2015; Papamanoli et al., 2003; Ramaroson et al., 2018; R. Rubio et al., 2014; Samapundo et al., 2010; Vasilopoulos et al., 2010; Vermeiren et al., 2004, 2006). These studies aimed generally to prevent spoilage occurrence or inhibit pathogenic bacteria to ensure safety by inoculating, during food processes, one or several microorganisms considered as protective cultures especially from LAB groups. One can cite for example the use of *Lactobacillus rhamnosus* for inhibiting several strains of *L. monocytogenes* and *S. enterica* in fermented sausages (R. Rubio et al., 2014), cultures of *Lactococcus lactis* for inhibiting pathogenic or spoilage spore-forming species such as *Bacillus cereus* or *Clostridium botulinum* in ham or Thai traditional fermented sausages (Noonpakdee et al., 2003; Ramaroson et al., 2018), different mixed protective starters with *Lactobacillus sakei* for inhibiting *Staphylococcus carnosus* and *Staphylococcus xylosus* in dry fermented chicken sausages (Deumier & Collignan, 2003) or the use of *Lactobacillus plantarum* as efficient antimicrobial bio-preservatives on fresh chicken meat (da Silva Sabo et al., 2017).

v. Animal diet supplementation

Some authors also studied the influence of the animal diet supplementation, especially in antioxidants in the improvement of the meat quality. These studies represented 7% of the collected data (Bañón et al., 2012; Chulayo et al., 2016; C. O. Gill & Bryant, 1992; Greer & Jones, 1997; P. Gustavsson & Borch, 1993; Holley et al., 1996; Leticia et al., 2017; Mäkelä & Korkeala, 1987; Nerbrink & Borch, 1993; Ortuño et al., 2014, 2015; Serrano et al., 2014; Voidarou et al., 2011).

3.2 Spoilage occurrence time in meat products

3.2.1 Spoilage occurrence time in red and white meat products

The second selection of publications providing quantitative data on spoilage over time resulted in 24 studies corresponding to data obtained from white (chicken or turkey) or red (beef, pork, ostrich, foal or lamb) meat stored under refrigerated temperatures between 0 and 12 °C. Several types of fresh products, such as raw fillets or fresh sausages, were included in the dataset (Table I. 2). In total, 84 initial experimental conditions ($N = \sum n_i = 84$) were considered from the 24 chosen studies. The whole dataset obtained provided a global distribution of spoilage occurrence time, which varied from 3 to 26 days under refrigerated temperatures, with a median spoilage time estimated at nine days (Figure I. 4). Since this distribution was asymmetrical, the median time of nine days was defined as a critical threshold characterizing two principal spoilage stages. Spoilage occurring before the ninth day was considered “early spoilage” while that occurring from the ninth day onward was considered “belated spoilage”. Among the 41 experimental conditions showing an early spoilage stage, no spoilage was observed before three days.

Table I. 2 Data collected on spoilage occurrence time estimated from different experimental conditions in 24 studies. The cases filled in light grey correspond to the studied bacterial indicators, those filled in dark grey correspond to the spoilage indicators, i.e., measurement of sensory responses. N, total number of experimental conditions from all studies; n, number of experimental conditions in each study; r, number of replicates for each experimental condition.

Reference	**Experimental conditions in each study ($N = 84$)**			**Studied bacterial indicators (enumeration)**					**Spoilage sensory indicators**				
	[Red/White] Meat	**Packaging**	**Replicate ($n \times r$)**	**Mesophilic Aerobic Counts**	**LAB**	***Brochothrix* Spp.**	***Enterobacteriaceae***	***Pseudomonas* Spp.**	**Texture**	**Colour**	**Odour**	**Flavour**	**Exudate/ Drip Loss**
Alizadeh Sani et al. (2017)	[R] Lamb—Raw meat	Air	2 × 1										
Balamatsia et al. (2006)	[W] Chicken—Breast fillets	Air; MAP	2 × 3										
Balamatsia et al. (2007)	[W] Chicken—Breast fillets	Air; MAP; VP	3 × 1										
Capita et al. (2017)	[R] Ostrich—Steaks	MAP	8 × 8										
Chouliara et al. (2007)	[W] Chicken—Breast fillets	Air; MAP	6 × 1										
del Río et al. (2007)	[W] Chicken	Air	3 × 6										
Ercolini et al. (2010)	[R/W] Beef, Pork, Chicken—Various	Air	1 × 1										
Hasapidou and Savvaidis (2011)	[W] Chicken—Liver breasts	Air; MAP	6 × 1										
Herbert et al. (2013)	[W] Chicken—Breast fillets	MAP	6 × 1										
Jääskeläinen et al. (2013)	[R] Pork—Raw meat	MAP	1 × 1										
Jääskeläinen et al. (2016)	[R] Beef—Raw meat	MAP; VP	2 × 3										
Kapetanakou et al. (2014)	[R] Pork—Steaks	MAP	4 × 2										

Reference	**Experimental conditions in each study ($N = 84$)**			**Studied bacterial indicators (enumeration)**					**Spoilage sensory indicators**				
	[Red/White] Meat	**Packaging**	**Replicate ($n \times r$)**	**Mesophilic Aerobic Counts**	**LAB**	***Brochothrix* Spp.**	***Enterobacteriaceae***	***Pseudomonas* Spp.**	**Texture**	**Colour**	**Odour**	**Flavour**	**Exudate/ Drip Loss**
Liu et al. (2006)	[R] Pork—Legs	Air; MAP	6 × 3										
Lorenzo and Gómez (2012)	[R] Foal—Steaks	Air; MAP; VP	4 × 3										
Martinez et al. (2006)	[R] Pork—Forelegs	MAP	5 × 2										
Miks-Krajnik et al. (2016)	[W] Chicken—Breast fillets	Air	1 × 3										
Nieminen et al. (2016)	[R] Pork—Loin	MAP	4 × 2										
Petrou et al. (2012)	[W] Chicken—Breast fillets	MAP	4 × 1										
Rahkila et al. (2012)	[R] Pork—Various	MAP	3 × 1										
Rossaint et al. (2015)	[W] Chicken—Breast fillets	MAP	2 × 2										
Stoops et al. (2015)	[R] Beef—Raw meat	MAP	3 × 3										
Tremonte et al. (2005)	[R] Pork	MAP	3 × 3										
Vasilatos and Savvaidis (2013)	[W] Turkey	VP	4 × 1										
Wang et al. (2017)	[W] Chicken	Air	3 × 1										

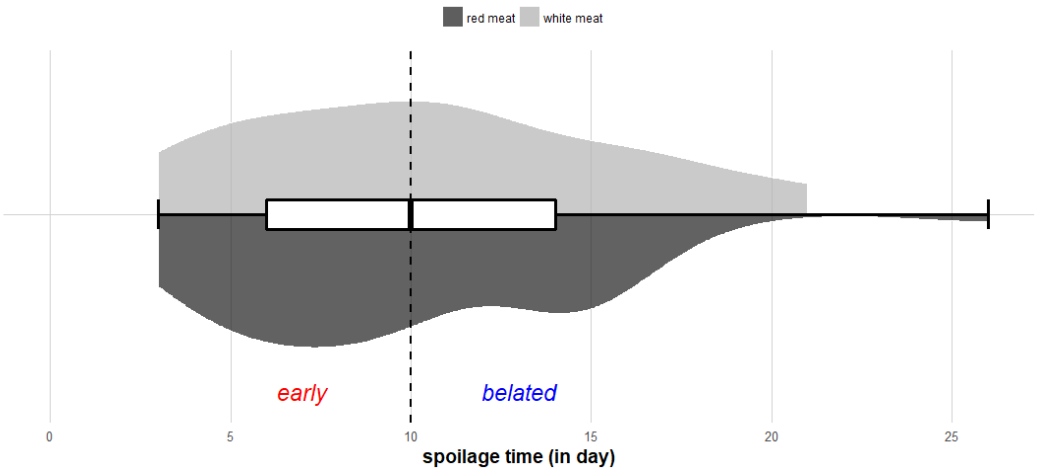


Figure I. 4 Distribution of spoilage occurrence time. The central boxplot represents the spoilage occurrence time obtained from all experimental conditions. The half violin plot represents spoilage time from studies involving red and white meat, respectively. The vertical dotted line represents the median spoilage time from all conditions, characterizing early and belated spoilage stages.

Spoilage occurred between the third and sixth day in 24 experimental conditions and between the sixth and ninth day in 17 conditions. For conditions corresponding to belated spoilage, the spoilage occurred between the 9th and 16th day in 32 of 43 experiments. Thus, the spoilage occurrence time of fresh meat reached more than 16 days in 11 of 84 experiments under refrigerated temperatures, corresponding to about 13% of cases.

The above variability in the distribution of spoilage time led us to assume, firstly, that spoilage might depend on the type of meat products, i.e., red or white. To consider this, the distributions of spoilage occurrence time for red and white meat products were separately studied (Figure I. 4). In the case of white meat, the distribution followed a rather symmetrical Gaussian distribution and varied around an average value of 9.9 days. The average spoilage occurrence time in red meat products was slightly lower and estimated at 9.2 days. Although spoilage occurrence in red meats was mainly quite early, the belated spoilage could exceed 21 days and also had a slightly greater variability in comparison with white meat. Surprisingly, our data did not show any significant difference in spoilage occurrence time between red and white meats ($p > 0.05$—Wilcoxon test). This suggested that spoilage was observed at similar storage times in spite of the different characteristics of red and white meat products. However, the onset and kinetics of spoilage may depend on specific mechanisms, such as protein degradation or preferential metabolisms of spoilage-associated microorganisms, causing modification in colour or off-odour (Dave & Ghaly, 2011; McMillin, 2008; Pin et al., 2002).

3.2.2 Influence of initial gas composition in the packaging

The dynamics of gas composition in the packaging headspace was not available for the 24 chosen studies; therefore, we focused only on initial compositions of the gas mixtures. Besides

air or vacuum packaging in which no additional gas was added, several types of gas mixtures were used with different proportions of O_2 and carbon dioxide, completed by inert gases (argon or nitrogen). The used gas mixtures were O_2–CO_2, O_2–CO_2–N_2, O_2–CO_2–Ar, CO_2–N_2, CO_2–Ar and 100% N_2. The O_2 and CO_2 proportions varied from 5% to 80%. The distribution of the spoilage stages depending on the initial gas composition of O_2 and CO_2 and different types of packaging (vacuum, air and MAP) is represented in Figure I. 5. Plotting the spoilage stage as a function of the initial gas composition provided a global visualization of the effect of packaging. This graphical exploration enabled us to identify different visual patterns of spoilage, as well as advantageous options of MAP regarding spoilage delay.

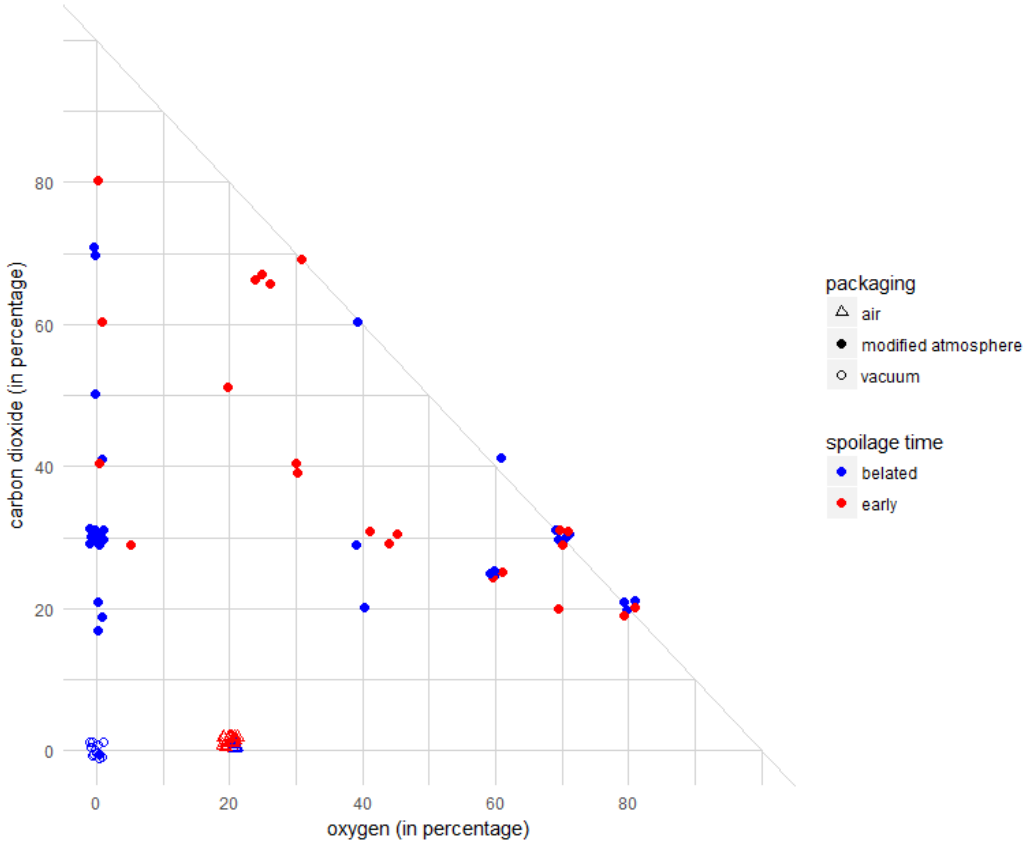


Figure I. 5 MAP triangular graph depicting the spoilage stage following different initial proportions of O2 and carbon dioxide in the packaging. The data are represented as jitter points to avoid overplotting. The blue and red symbols correspond to belated and early spoilage, respectively. The shapes of the points correspond to different types of packaging.

Based on our data, removing O_2 in the packaging seemed to be relevant for meat preservation. Indeed, spoilage under anaerobic packaging was generally delayed (Figure I. 5, blue points on the vertical axis). The packaging containing neither O_2 nor CO_2 represented MAP advantageous options of spoilage delay: the products were spoiled later in seven out of nine experiments. These conditions corresponded to vacuum-packaging or atmosphere under 100% N_2 (rarely used, only in one study). Anaerobic MAP containing carbon dioxide (Figure I. 5) was observed as another MAP advantageous option of spoilage delay: spoilage

was belated in 17 of 22 experiments. In all the above O_2-depleted conditions, no significant difference in the spoilage occurrence time was observed between vacuum and anaerobic atmosphere packaging. Thus, regardless of the packaging mode and carbon dioxide concentration, O_2 depletion appeared beneficial in terms of delaying spoilage occurrence.

Although spoilage occurrence was belated in most cases with anaerobic packaging, it was not possible to conclude with certainty that aerobic packaging accelerates spoilage. O_2 was generally present with other gases. Indeed, gas mixtures with 60–80% O_2 were used in 19 experiments (mostly for red meat products, such as raw pork and beef meat, probably to keep the red colour). These compositions led to 7 early and 12 belated spoilages, and it is thus difficult to conclude the role of high O_2 content. Conversely, packaging containing intermediate levels (from 20% to 50%) of O_2 mostly led to early spoilage: 17 early spoilage events occurred in 20 cases under air and 10 events in 13 cases under MAP. Globally, regardless of O_2 content, the spoilage occurrence time was shorter for products under air than under MAP. This difference might be explained by the higher initial concentration of CO_2 in MAP. Finally, removing inert gases (Ar and N_2) from initial aerobic atmosphere did not seem to impact spoilage occurrence time. Indeed, gas mixtures encompassing exclusively O_2 and CO_2 led to five early and nine belated spoilages (Figure I. 5).

The above findings on various gas compositions (aerobic vs. anaerobic packaging and air vs. aerobic MAP completed with CO_2) revealed implicitly separate effects of the presence of O_2 and CO_2 on spoilage occurrence time. Thus, we found it interesting to study the spoilage time according to the presence of these gases in packaging. A threshold value was then chosen in order to define the limit between what we considered the “presence” or “absence” of these gases in the packaging. In this study, this value was arbitrarily set at 5% of the gas proportion, since the minimal initial O_2 percentage was 5% among the 84 experimental conditions. The distribution of spoilage time in the groups containing “less than” or “more than” 5% of O_2 and CO_2, are represented in Figure I. 6.

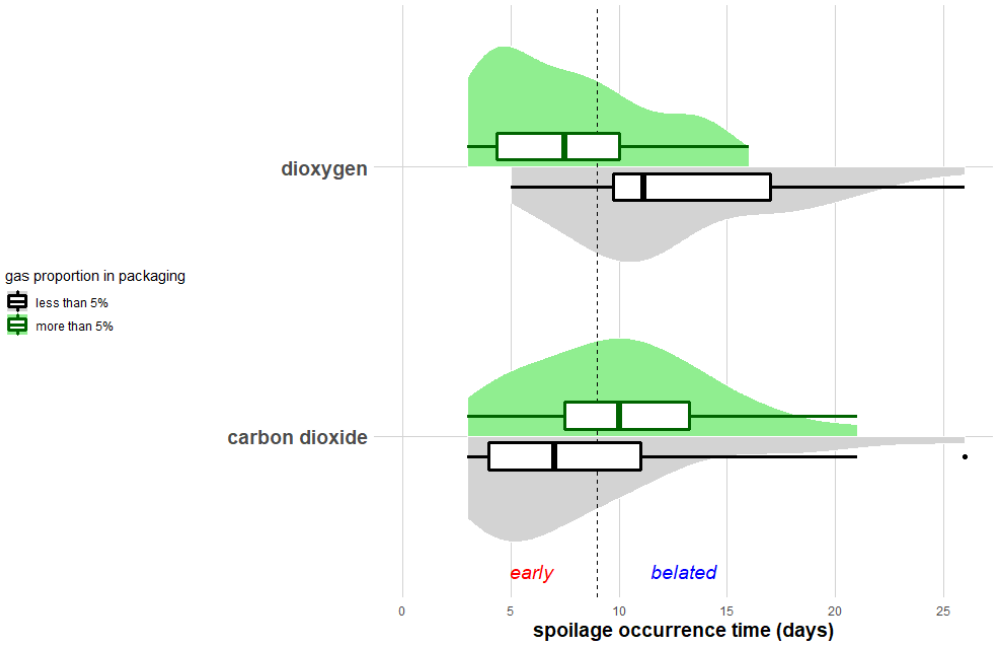


Figure I. 6 Spoilage occurrence time of meat products stored in packaging containing more or less than 5% of O_2 or carbon dioxide. The vertical dotted line corresponds to the median spoilage time characterising early and belated spoilage stages.

Spoilage occurrence varied differently in the presence and absence of O_2 (Figure I. 6). In packaging with less than 5% O_2, the spoilage occurrence time was rather distributed following a symmetrical distribution and varied around an average value of 12.7 days. In these almost anaerobic conditions, spoilage occurred mostly after the ninth day (in 25 of 32 cases). Conversely, with more than 5% O_2, the spoilage occurrence time was asymmetrically distributed, with early occurrence in most cases, especially at the fourth day (Figure I. 6). Early spoilage corresponded to various gas mixtures, including packaging under air and other MAP, with different O_2-CO_2 proportions. Finally, the comparison of spoilage occurrence time between the "more than 5% O_2" and the "less than 5% O_2" groups highlighted a significant difference (Wilcoxon and Pearson's chi-squared tests, $p < 0.05$). Therefore, the presence of O_2 in packaging significantly impacted the spoilage occurrence time of fresh meat products.

The spoilage occurrence time seemed to also be impacted by the "more than 5%" or "less than 5%" carbon dioxide groups, since its distribution behaved differently in these conditions (Figure I. 6). In packaging with less than 5% carbon dioxide, the asymmetrical distribution indicated that there were more early spoiled products than belated ones. With less than 5% of carbon dioxide, most of the cases indicated early spoilage before the fifth day. These cases corresponded exclusively to packaging under air. The effect of CO_2 on spoilage time was also evaluated in the same way as described above for O_2. Surprisingly, our dataset did not show any significant statistical difference between packaging containing more than 5% or less than 5% CO_2.

Spoilage was significantly delayed in the absence of O_2; however, even under anaerobic conditions, the great variability and symmetrical distribution of spoilage occurrence time suggested that O_2 depletion from the packaging did not ensure a belated spoilage for all products. Otherwise, under packaging containing O_2, spoilage time was globally shortened, but also influenced by CO_2 percentage. Moreover, O_2 and CO_2 concentrations in packaging can vary over storage time, which can differentially impact bacterial metabolic activities and meat spoilage processes during storage (McMillin, 2008).

3.2.3 Influence of chilled storage temperature

The relationship between storage temperature and spoilage occurrence time is represented in Figure I. 7. Most experiments under refrigerated temperatures (between 0 and 12 °C) were carried out at 4 °C. The local regression showed a slight decrease of the smooth curve for early spoiled products (before the ninth day) and a stabilization phase at the belated stage (after nine days, inclusively). This trend could be explained by the fact that all products stored at higher than 8 °C spoiled very early. All products stored at temperatures between 2 and 6 °C did not necessarily spoil after our critical threshold of nine days. Indeed, in the case of products stored at 4 °C, the spoilage occurrence time showed great variability from 3 to 21 days. However, despite the observed trend from local regression, our data on refrigerated storage conditions did not enable us to highlight a significant correlation between temperature and spoilage time.

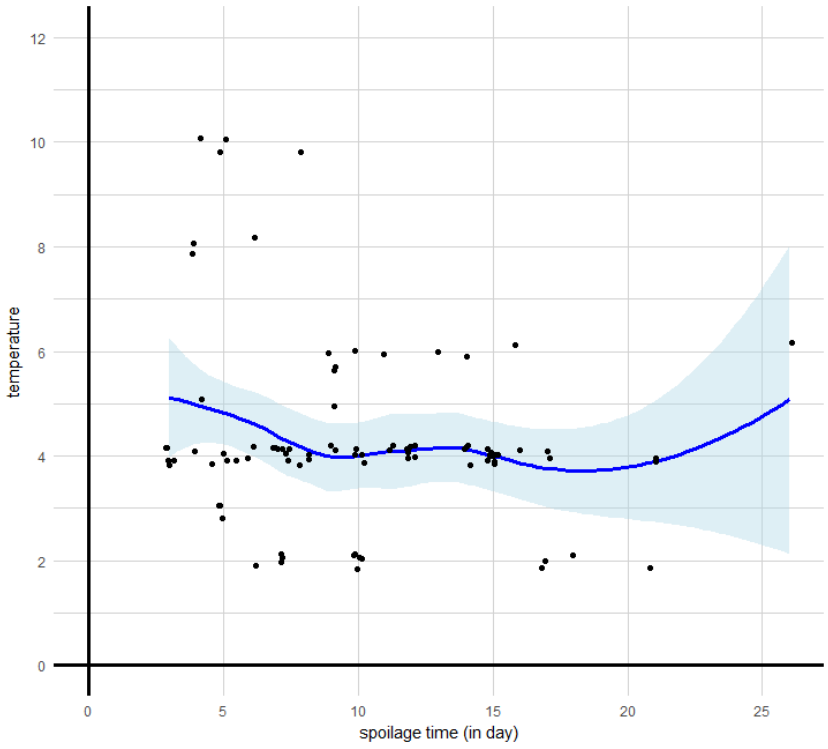


Figure I. 7 Spoilage occurrence time observed at different storage temperatures. The data are represented as jitter points to avoid overplotting. The thick blue line represents the smooth curve obtained by LOESS local non-linear regression. The blue band corresponds to the 95% confidence interval around the smooth curve.

In this study, the difficulties in analysing effects of storage temperature on spoilage occurrence time might be mainly due to several statistical reasons. Since data were collected from experiments performed under different MAP, with various types of meat, temperatures, etc., the data analyses are thus multifactorial. Although effects of temperature on microbial growth in meat products are incontestable (Senter et al., 2000; Zhang et al., 2012), the multifactorial data analyses may have allowed the effects of storage temperature to be covered up by other factors. Moreover, as seen in Figure I. 7, very few data points corresponding to a spoilage time greater than 15–16 days were reported, which led to a bad estimation of the confidence interval. Finally, since most experiments were conducted at 4 °C, the non-Gaussian distribution of storage temperature led us to assess correlation between temperature and spoilage occurrence time using the inevitably appropriate non-parametric test, which usually has less statistical power than its parametric equivalent (Grech & Calleja, 2018).

3.2.4 Relationship between spoilage occurrence time and microbiological indicators

Five principal microbiological indicators were considered, i.e., total mesophilic aerobic counts, LAB, *Brochothrix* spp., *Pseudomonas* spp. and *Enterobacteriaceae*. The CFU enumerations are summarized in Table I. 1. The distribution of the counts for each indicator is represented as a function of the spoilage stage (Figure I. 8).

At the spoilage time and regardless of spoilage stage (early or belated), total mesophilic aerobic counts were observed as the most abundant group (6.52 log CFU/g in average) and *Enterobacteriaceae* as the least abundant group (4.61 log CFU/g in average). However, *Enterobacteriaceae* counts presented the highest variability range in comparison with the other groups, as their values ranged from 0.8 to 9.8 log CFU/g. Mesophilic aerobic counts were observed as the most abundant group, but the least variable, as its distribution varied between 2.8 and 9.8 log CFU/g with the lowest standard deviation. The remaining bacterial indicators, including LAB, *Brochothrix* spp. and *Pseudomonas* spp., had overall average and standard deviation values of approximately the same level. Globally, the results from the whole dataset (84 initial experimental experiments) showed a significant difference in the bacterial counts of the five bacterial indicators observed at the spoilage occurrence time, regardless of the spoilage stage ($p < 0.05$, ANOVA).

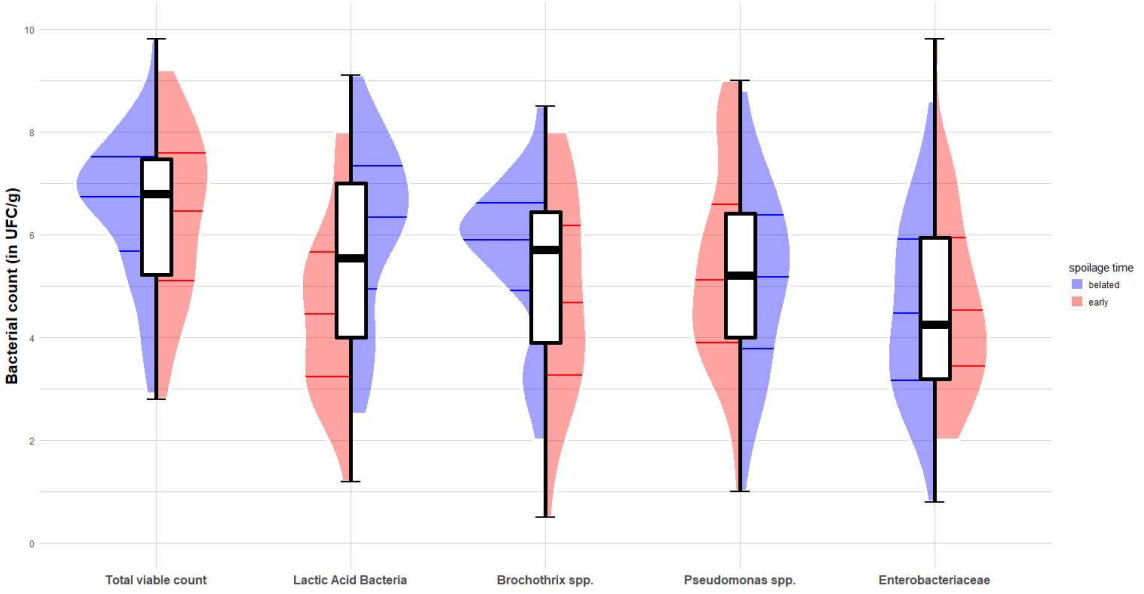


Figure I. 8 Distribution of bacterial count observed at spoilage occurrence time for different microbiological indicators in early and belated spoilage stages. The different plots correspond to different indicators. For each indicator, the central boxplot represents the overall distribution of the bacterial count. Half violin plots in red (or blue) represent the distribution of the bacterial count at the spoilage occurrence time in the cases of early (or belated) spoilage. Horizontal thick lines on half violin plots correspond to the first quartile, median value and third quartile of each distribution, respectively.

The comparison between early and belated spoilage suggested different distributions of the bacterial indicators in the two spoilage stages (Table I. 3, Figure I. 8). Firstly, the distribution of total mesophilic aerobic counts was similar in early and belated spoiled products. The average counts were estimated, respectively, at 6.31 and 6.71 log CFU/g in early and belated spoilage stages. These results suggest that, regardless of the time at which spoilage occurred (before or after the ninth day), total mesophilic aerobic counts had grown in the same way as before spoilage. Hence, a low total mesophilic aerobic count may not necessarily trigger belated spoilage outcomes. The similarities in bacterial counts between early and belated spoilages were also observed for the groups of *Brochothrix* spp., *Pseudomonas* spp. or *Enterobacteriaceae*. These indicators seemed independent of the spoilage stage. In contrast, LAB counts in the belated spoiled products was significantly higher than in the early ones. The observed average values of the LAB count in spoiled products before and after the critical threshold of nine days were, respectively, 4.46 and 6.05 log CFU/g, with more than 3 log CFU/g of variability.

The results suggest that relationships between observed counts and spoilage occurrence time might differ from one bacterial indicator to another. In other words, all the studied groups do not grow in the same way before the occurrence of spoilage, so they may contribute differently to the spoilage process. To investigate this, for each indicator the correlation between their population level and the spoilage occurrence time was assessed (Table I. 3, Figure I. 9).

Table I. 3 Enumeration of different bacterial groups at the spoilage occurrence time (overall, early and belated spoilage). N, total number of experimental data collected from all studies.

	Mesophilic Aerobic Counts	**Lactic Acid Bacteria**	***Brochothrix* spp.**	***Pseudomonas* spp.**	***Enterobacteriaceae***
N	71	62	45	66	59
[min-max]	[2.8–9.8]	[1.2–9.1]	[0.5–8.5]	[1.0–9.0]	[0.8–9.8]
early	[2.8–9.2]	[1.2–8.0]	[0.5–8.0]	[1.0–9.0]	[2.0–9.8]
belated	[2.9–9.8]	[2.5–9.1]	[2.0–8.5]	[1.0–8.0]	[0.8–8.6]
Mean ± sd	6.52 ± 1.59	5.36 ± 1.89	5.18 ± 1.82	5.28 ± 1.89	4.61 ± 1.83
early	6.31 ± 1.70	4.46 ± 1.68	4.74 ± 2.08	5.43 ± 2.04	4.55 ± 1.90
belated	6.71 ± 1.43	6.05 ± 1.76	5.50 ± 1.56	5.13 ± 1.75	4.67 ± 1.80
Correlation with spoilage occurrence time	0.0279	0.3208 *	0.1042	−0.2046	−0.0762

* $p < 0.05$, non-parametric Spearman's rank correlation test.

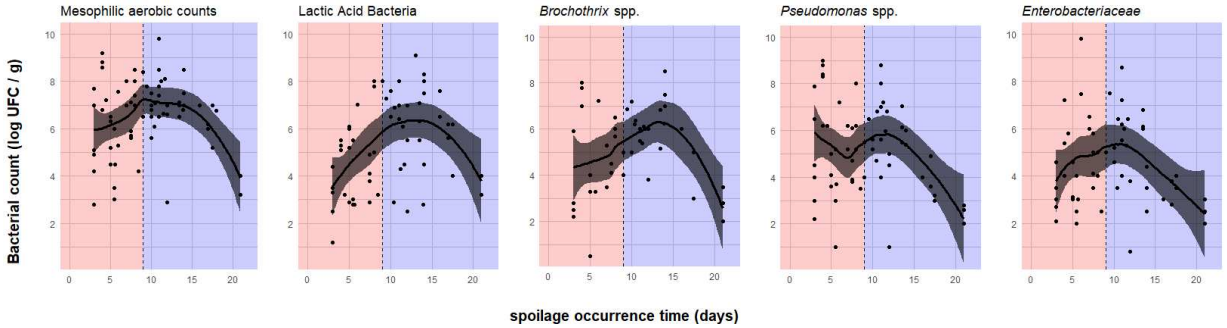


Figure I. 9 Enumeration of different microbiological indicators observed at spoilage occurrence times. The dotted vertical line corresponds to the median spoilage occurrence time characterizing early and belated spoilage stages, which are represented in red and blue backgrounds, respectively. The thick black curve represents the smooth curve obtained by LOESS local non-linear regression. The grey band corresponds to the 95% confidence interval around the smooth curve.

For all indicators, spoilage occurrence after the 15th day was exceptional and associated with particularly low bacterial counts. In these conditions, the smooth curves and confidence intervals showed a decreasing trend, which corresponded to 11 experimental conditions from six different studies, mostly concerning raw chicken meat packed under anaerobic MAP or vacuum. Moreover, in two of the six studies, in addition to the use of MAP, meat products were also treated with different combinations of additives, such as oregano, rosemary oil or chitosan. These additives probably contributed to the exceptionally low bacterial population.

Considering all products spoiled within 15 days, the non-linear regression shown in Figure I. 9 suggested a clear ascending trend for the LAB and *Brochothrix* spp. count following spoilage occurrence time, a quite steady trend for the total mesophilic aerobic counts and *Enterobacteriaceae* and a slight decrease before the ninth day for the *Pseudomonas* spp. group. For LAB, a significant positive correlation was observed between the bacterial counts and the spoilage time. This correlation and the observed difference in LAB counts between early and belated spoiled products may, therefore, confirm a potential protective role of this

group. Concerning *Brochothrix* spp., no significant statistical correlation between counts and spoilage time was observed. Figure I. 9 shows a confidence interval estimated much wider on the left side for this group, which means that the available data for *Brochothrix* spp. in early spoiled products are probably insufficient to describe correlation. For total mesophilic aerobic counts and *Enterobacteriaceae*, a steady regression curve and non-significant correlation coefficients (close to 0) were observed between counts and the spoilage occurrence time. Therefore, the development of mesophilic aerobic counts, *Brochothrix* spp. and *Enterobacteriaceae* seemed to be independent of the spoilage time. Mesophilic aerobic counts encompass a very diverse population. This bacterial indicator is obviously not specific enough to find correlation between counts and spoilage occurrence. For *Pseudomonas* spp., a softly decreasing trend and a slight negative correlation between counts and the spoilage occurrence time supports the assumption of the potential spoiling abilities of these bacteria.

4 Conclusion

The first step of the analysis highlighted the main responses which are generally monitored for spoilage evaluation and preservation strategies suggested. Among 258 studies, only 24 publications provided quantitative data enabling a quantitative analysis of the effects of gas packaging on spoilage occurrence time. It highlights that, in this field, studies are often descriptive or provide end-point characterization of spoilage which does not enable to perform kinetic analysis. Our results give a large overview of the relationships between spoilage occurrence and various indicators. The role of each bacterial group revealed from this study seems consistent with prior knowledge in the literature. However, our analyses were mostly based on cultural enumeration data, since the data issued from literature using high throughput sequencing, which is more informative about the bacterial groups (species or genera), unfortunately reported only bacterial relative abundance. The text-mining approach was also useful to identify relevant literature data, since it identified relevant keywords from articles provided by experts, thus enabling better targeting of further searches on scientific databases. Nevertheless, the quantitative analysis of spoilage-related data was, unfortunately, limited by the data available from research articles. Although the searches were performed on full texts to avoid omission of important studies, the thorough "manual" filtering and required selection criterion regarding the quantitative sensorial data over time led to the ultimate selection of only 24 studies to use for quantitative data analyses. The identification of influencing factors on spoilage occurrence time was consequently performed from quite a small dataset (84 initial experimental conditions in multifactorial dataset). The effects of these factors could not all be evaluated by hypothesis testing because of statistical significance problems. Indeed, using a multitude of hypothesis tests (and p values) on the same dataset may lead to uninterpretable test statistics, increasing the "false positive" effect and otherwise covering up the effects of other factors (J. Gill, 1999; Gliner et al., 2001).

Therefore, for some factors, we preferred avoiding the hypothesis significance testing and using only graph interpretation instead.

We aimed to study the effects of several biological and physicochemical factors on spoilage occurrence time of meat products using a novel method for analysing literature data. This method of combining experts' opinions and the text mining approach for extracting relevant information enabled us to give an overview of multiple different studies. It also pointed out the deficit of quantitative data in research articles, which would be beneficial to dispose for further thorough studies relative to spoilage. Within the food microbiology frameworks, such methods could be profitably implemented, for instance for other food products, for which existing data are also available.

Supplementary materials

Supplementary materials can be found at https://www.mdpi.com/2076-2607/8/8/1198/s1, Table S1: Data table of the 258 publications, highlighting the main responses measured to assess spoilage and preservations technologies (excel file).

Author contributions

Conceptualization, S.G., J.-M.M., L.C. and N.-D.M.L.; methodology, N.-D.M.L.; investigation, N.-D.M.L.; data curation, S.G. and N.-D.M.L.; writing—original draft preparation, N.-D.M.L. and S.G.; writing—review and editing, N.-D.M.L., S.G., J.-M.M., L.C. and M.Z.; supervision, S.G.; project administration, M.Z.; and funding acquisition, M.Z. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding

This work was funded by the French Research National Agency (ANR) REDLOSSES project (ANR-16-CE21-0006).

Acknowledgments

The authors are grateful to collaborators of the REDLOSSES consortium for their contribution to the data collection and the expert analysis of literature that participated to generate relevant keywords (Émilie Cauchie, Stéphane Chaillou, Marie-Christine Champomier-Vergès, Marie-Hélène Desmonts, Carole Feurer, Rodérick Gohier, Erwann Hamon, Emmanuel Jaffrès, Sabine Jeuge and Dalal Werner). We also thank Simon de Givry for his advices on text mining approach.

Conflicts of interest: none

The authors declare no conflict of interest.

Partie I.B – Description de l'altération par la modélisation mathématique

L'étude de l'altération d'origine microbiologique nécessite de caractériser les réponses des microorganismes aux conditions biotiques et abiotiques de l'environnement alimentaire. Dans un passé récent, les techniques expérimentales ne nous permettaient pas d'avoir accès à l'ensemble du microbiote présent sur un aliment en cours d'altération, les techniques employées fréquemment étaient des méthodes de dénombrement de la charge microbienne, très souvent sur milieu sélectif, donc il s'agissait d'études assez ciblées sur un groupe bactérien à chaque fois. A partir de ces données de dénombrement, plusieurs méthodes de modélisation mathématique issues de la discipline appelée microbiologie prévisionnelle ont été proposées afin de décrire le comportement microbien. Depuis quelques années, il est désormais possible de caractériser plus préciser les microbiotes alimentaires. Les données produites étant devenues complexes et hétérogènes, ont nécessité le développement de nouvelles méthodes d'analyse de données multivariées pour décrire le phénomène d'altération. Cette partie I.B consiste en une synthèse, dans un premier temps, des méthodes de microbiologie prévisionnelle historiquement développées pour la modélisation de réponses microbiennes dans les aliments, puis dans un second temps, des méthodes d'analyse multivariée utilisées dans un cadre d'étude de l'altération.

1 Modélisation de réponses microbiennes

1.1 Microbiologie prévisionnelle : quelques généralités

La microbiologie prévisionnelle, discipline qui se situe à l'interface des mathématiques et de la microbiologie, est née au cours du 20^{ième} siècle ; elle vise à décrire le comportement de microorganismes dans les aliments (McKellar & Lu, 2004; McMeekin et al., 2007). Le principe de la discipline consiste à développer des modèles mathématiques (sous forme de fonctions ou équations) pour décrire différents types de réponses microbiennes au cours du temps. Ces réponses peuvent correspondre par exemple au processus de croissance, à la survie ou l'inactivation de microorganismes (Baranyi & Roberts, 1995; McKellar & Lu, 2004; Possas et al., 2017). Historiquement destinée à décrire les réponses de microorganismes pathogènes en vue d'une évaluation de la sécurité des aliments, l'application des modèles de microbiologie prévisionnelle a ensuite été étendue dans les études de l'altération depuis les années 1960 (Olley & Quarmby, 1981; Olley & Ratkowsky, 1973; Spencer & Baines, 1964). Au cours de ces trente dernières années de la microbiologie prévisionnelle, de très nombreux types de modèles (McMeekin et al., 1992)ont été développés pour la prévision de la qualité

et de la sécurité des produits alimentaires (Brul et al., 2007; McMeekin et al., 1992, 2007; McMeekin & Ross, 1996). Les modèles ont été construits de manière à ce que la réponse microbienne considérée soit décrite en fonction du temps avec différents paramètres associés soit aux caractéristiques des microorganismes (par exemple un taux de croissance ou le temps de génération), soit aux environnements qui les entourent (par exemple paramètres associés à la température ou au pH) (McKellar & Lu, 2004; McMeekin et al., 2007). Ces modèles, qui sont construits avec plus ou moins de paramètres et ajustés aux données expérimentales (par l'estimation des paramètres), permettraient ainsi de prédire une réponse microbienne au cours du temps. Ces modèles peuvent être fondamentalement classés en plusieurs catégories : (i) les modèles dits « primaires » avec généralement peu de paramètres permettant de décrire l'évolution de la réponse microbienne à une condition environnementale donnée (Baranyi & Roberts, 1994; Buchanan et al., 1997), (ii) les modèles dits « secondaires » incluant des paramètres caractérisant les variations de la réponse en fonction d'autres conditions environnementales (Davey, 1989; McKellar & Lu, 2004; Muermans et al., 1993; Marcel H. Zwietering et al., 1993). Un enjeu important de la construction, de l'adaptation ou de la combinaison de ces modèles à différents types de réponses microbiennes, différentes conditions environnementales ou différents aliments consiste à concevoir des outils de prédiction des processus microbiens, aussi dits modèles « tertiaires », dont l'utilisation pourrait être facilitée pour une application en industrie ou dans d'autres domaines de recherche (Ferrer et al., 2009; McDonald & Sun, 1999; Psomas et al., 2011). Grâce au développement de ces modèles, la microbiologie prévisionnelle présente de nos jours de nombreuses applications dans le domaine de la microbiologie alimentaire (McMeekin et al., 2007)

1.2 Etudes ciblées sur un indicateur microbiologique

Dans le cadre d'études de l'altération des aliments via la modélisation en microbiologie prévisionnelle, une première approche vise à décrire de manière ciblée une réponse d'un microorganisme (par exemple la croissance) supposée *a priori* être responsable du phénomène d'altération ('altérant') et dont la charge peut être considérée comme indicateur microbiologique de l'altération. La question sous-jacente de cette approche est de chercher à savoir comment ces microorganismes altérants se développent sur un produit alimentaire au cours du temps éventuellement sous l'influence de différents facteurs. Comme exploré précédemment dans la partie I.A, nous pouvons citer par exemple quelques indicateurs couramment étudiés comme la charge totale des bactéries aérobies mésophiles totales (TAMB), les bactéries lactiques (LAB), *Pseudomonas* spp., ou encore les *Enterobacteriaceae.* La croissance d'un microorganisme altérant au cours du temps peut donc être formalisée dans un premier temps par un modèle primaire sous la forme générale comme suit :

$$y(t) = \Phi(t; \Theta), \qquad (Eq.I.1)$$

où $y(t)$ correspond à la réponse microbienne suivie au temps t et Θ représente l'ensemble des paramètres du modèle formalisé par la fonction Φ. Le choix de la variable de réponse y ainsi que la définition de la fonction Φ et ses paramètres sont très variables dans la littérature. Nous pouvons citer par exemple le modèle avec la fonction logistique premièrement utilisée pour décrire l'évolution du nombre de cellules bactériennes avec quatre paramètres associés aux valeurs asymptotiques (bornes inférieure et supérieure), un taux de croissance et le temps où ce taux atteint sa valeur maximale (Peleg, 1997); des modèles adaptés ensuite par différentes variantes de la fonction de Gompertz qui décrit la croissance avec des paramètres d'intérêt associés aux valeurs asymptotiques, un taux de croissance ainsi que la durée d'une phase de latence de la croissance (Breidt & Fleming, 1998; Devlieghere et al., 2000; M. H. Zwietering et al., 1990). Ces paramètres d'intérêt ont été introduits d'une part dans des modèles dits « empiriques » qui se focalisaient sur la description et la prédiction des comportements observés dans les données expérimentales. D'autres part, les paramètres peuvent être définis dans certains modèles qui se veulent parfois « mécanistes » et qui cherchent à comprendre la croissance des microorganismes intimement liée à l'environnement (par exemple, phase latence liée à une phase de synthèse de substrats nécessaires pour la croissance, la densité cellulaire maximale est liée à une concentration limitée de substrats, etc.) (Ferrer et al., 2009). Le développement de ces modèles a ainsi ouvert plusieurs possibilités de fonctions pour formaliser les courbes de croissance, par exemple par une courbe linéaire à trois phases (Buchanan et al., 1997), une courbe non linéaire (Baranyi et al., 1999; Holley & McKellar, 1996; McKellar & Lu, 2004), devenues parfois complexes avec plusieurs paramètres. Nous pouvons citer un exemple de modèle mécaniste de croissance non linéaire proposé par Baranyi and Roberts (1995) formalisé par une fonction explicite comme suit :

$$y(t) = y_0 + \mu_{max}.A(t) - \frac{1}{m}\ln\left(1 + \frac{e^{m.\mu_{max}.A(t)} - 1}{e^{m(y_{max} - y_0)}}\right), \qquad (Eq.I.2)$$

$$A(t) = t + \frac{1}{\nu}\ln\frac{e^{-\nu t} + q_0}{1 + q_0}, \qquad (Eq.I.3)$$

où la réponse à étudier $y(t)$ correspond au logarithme népérien du nombre de cellules au temps t (y_0 pour le temps initial), m caractérise la courbure de la fonction de croissance avant d'atteindre une phase stationnaire, μ_{max} correspond au taux de croissance maximale, q_0 caractérise l'état physiologique initial des cellules, et ν correspond à un taux d'accroissement d'un substrat critique nécessaire pour la croissance microbienne.

Les différentes courbes sont ensuite ajustées aux données expérimentales associées à la mesure de la réponse du microorganisme ciblé pour l'étude. Comme exploré précédemment dans notre revue sur les mesures de réponses microbiennes (cf. partie I.A), le dénombrement

de la charge bactérienne sur milieux de culture (sélectif ou non) est la méthode expérimentale la plus courante pour la mesure de réponse microbienne. Pour le suivi de la croissance microbienne, d'autres méthodes peuvent également être utilisées comme la mesure de la densité optique d'une culture de bactéries (C. O. Gill et al., 1997), la mesure par cytométrie en flux (Manzano et al., 2005; Pellissery et al., 2019; Todorov & Saeys, 2018), la mesure de la taille du mycélium dans le cas de moisissures (Dagnas et al., 2014; Gougouli & Koutsoumanis, 2017) ou encore la mesure de l'impédance microbiologique associée au métabolisme microbien (Firstenberg-Eden, 1985). La Figure I. 10 illustre quelques exemples de modèles primaires ajustés aux données expérimentales de croissance microbienne mesurées par dénombrement sur milieu de culture.

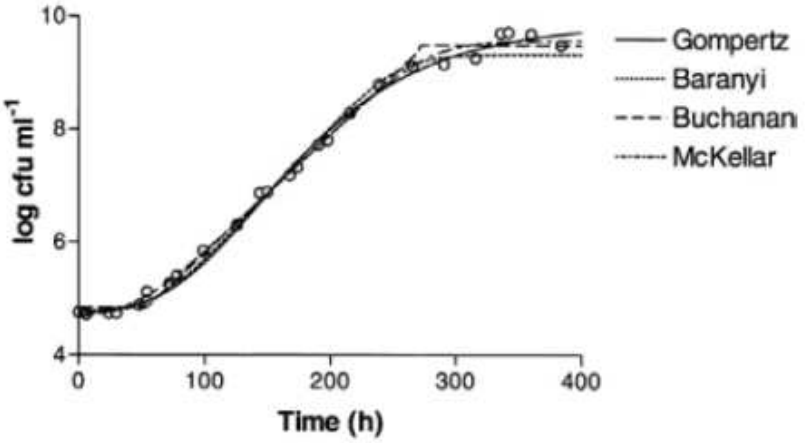


Figure I. 10 Exemples de modèles dynamiques ajustés aux mêmes données expérimentales pour décrire la croissance de *Listeria monocytogenes* à 5°C (extrait des travaux de McKellar and Lu (2004)) : modèle Gompertz (Gibson et al., 1987; Gompertz, 1825), modèle Baranyi (Baranyi & Roberts, 1994), modèle Buchanan (Buchanan et al., 1997), modèle McKellar (Holley & McKellar, 1996).

La description de la dynamique des réponses microbiennes peut être ensuite étendue à des modèles secondaires sous la forme :

$$y(t) = \Phi(t; \Theta \dots), \qquad (Eq.I.4)$$

avec

$$\Theta = f(\theta_1, \theta_2, \dots), \qquad (Eq.I.5)$$

où les paramètres Θ associés à la croissance bactérienne peuvent être exprimés en fonction des conditions extracellulaires caractérisées par les paramètres θ via la fonction f. L'hypothèse majeure sous-jacente des modèles secondaires considère que la croissance bactérienne dépend de différents facteurs comme le type d'aliments, l'espèce bactérienne, le pH, la température ou les gaz O_2/CO_2, etc. (Cerveny et al., 2009; Dave & Ghaly, 2011). Par conséquent, pour la fonction f, il pourrait s'agir par exemple des fonctions incluant différents paramètres supplémentaires associés à ces facteurs. Ces modèles secondaires peuvent être utilisés pour évaluer comment une variation de température ou d'autres facteurs influence

par exemple le taux de croissance, la durée de la phase de latence ou la réduction de la charge des microorganismes dans un aliment. Tout comme les modèles primaires, les modèles secondaires ont été largement développés et documentés pour différents facteurs, microorganismes ou matrices alimentaires (Ferrer et al., 2009; McDonald & Sun, 1999; McKellar & Lu, 2004). La modélisation mathématique de la croissance bactérienne est ainsi utilisée dans de très nombreuses études d'altération des aliments, par exemple pour la prédiction ciblée de la croissance de *Lactobacillus viridescens* dans des conditions non-isothermes de la viande (Costa et al., 2016), la croissance de *Vibrio parahaemolyticus* en fonction de différentes températures sur le saumon (Yang et al., 2009), ou encore le développement des microorganismes psychrotolérants dans une étude de l'altération du fromage (Buehler et al., 2018).

Une application possible de la sortie de modèles de croissance bactérienne dans les études d'altération consiste en l'estimation d'une « durée de vie » microbiologique (« shelf-life ») d'un produit alimentaire. L'idée première est d'estimer, à partir de modèles ajustés, le temps où la réponse microbienne étudiée dépasse une valeur seuil définie au préalable comme critère d'évaluation de la qualité microbiologique du produit. Cette valeur seuil peut varier d'une étude à une autre en fonction du type d'aliment ou du microorganisme ciblé. Par exemple, des seuils d'altération pour différents microorganismes *a priori* altérants ont été proposés pour déterminer une « shelf-life » comme le seuil des 6-7 log UFC/g de *Pseudomonas* spp. dans la viande (ICMSF, 1986; Schirmer & Langsrud, 2010) 8,5 log UFC/g de *Pseudomonas* spp. pour les salades (Dermesonluoglu et al., 2016; Nguyen-the & Carlin, 1994), etc. Il existe également d'autres manières de calculer la durée de vie « shelf-life » d'un produit alimentaire sous une condition environnementale donnée, notamment à partir des paramètres estimés avec les modèles primaires ou secondaires (temps de latence, charge bactérienne initiale, etc.), comme proposé dans l'ouvrage de McKellar and Lu, (2004). Il est important de noter que l'estimation de ces durées de vie est principalement basée sur un critère microbiologique souvent associé à un seul organisme. Cette approche de modélisation dite ciblée peut se révéler très utile et robuste par exemple dans la prédiction du comportement d'un organisme bien développé sur le produit altéré et considéré *a priori* comme « spécifique de l'altération » (*« Specific Spoilage Organism »*, SSO) (Devlieghere et al., 2000; Manios et al., 2014) ; ou dans des études ciblées sur un seul pathogène responsable déjà connu présent sur l'aliment ou encore un cas de recontamination d'une bactérie *a priori* altérante après transformation d'un produit alimentaire cuit par exemple (Ferrentino et al., 2013; Ledenbach & Marshall, 2009). Toutefois, en ce qui concerne les produits carnés frais qu'on peut considérer comme aliments complexes du point de vue microbiologique, le microbiote présent sur l'aliment peut être composé de divers groupes bactériens (Hultman et al., 2015). Il est difficile de mettre en évidence l'hypothèse d'un seul responsable de l'altération de la viande fraîche, car les organismes SSO englobent l'ensemble

des microorganismes bien développés voire en dominance au moment de l'altération, y compris ceux potentiellement responsables de l'altération et ceux qui se développent sans causer aucune dégradation (Gram et al., 2002). Pour ces cas de figure, la réponse d'un microorganisme peut dépendre de la présence et/ou du développement d'autres microorganismes (effet dit biotique). La modélisation de l'évolution des réponses microbiennes sur la viande fraîche s'est donc ensuite orientée vers la prise en compte simultanée des réponses de plusieurs microorganismes.

1.3 Modèles dynamiques et interaction entre plusieurs microorganismes

L'idée générale des modèles dynamiques associant plusieurs organismes consiste à décrire comment ceux-ci se comportent dans l'environnement (croissance, réduction en densité) de manière non-indépendante, par exemple pour des raisons de limitation de ressources ou de formation de produits inhibiteurs par certains microorganismes. Les modèles dynamiques associant plusieurs microorganismes en interaction sont en général des extensions de modèles utilisés pour un seul organisme décrit précédemment et formalisés comme suit :

$$\begin{cases} y_A(t) = \Phi_{\mathrm{A}}(t; \Theta_{\mathrm{A}}; \mathrm{g_A} \ldots), \\ y_B(t) = \Phi_2(t; \Theta_B; \mathrm{g_B} \ldots), \, , \\ \ldots \end{cases} \qquad (Eq.I.6)$$

où $y_A(t), y_B(t), \ldots$ représentent les évolutions des réponses microbiennes des microorganismes A, B,… au cours du temps via les fonctions $\Phi_A, \Phi_B, \ldots$ respectivement ; Θ_A, Θ_A , … correspondent à l'ensemble des paramètres d'intérêt dans la réponse de chaque microorganisme, et $g_A, g_B, \ldots$ correspondent à différents termes (coefficients ou fonctions) caractérisant les interactions entre microorganismes. Ces termes d'interaction peuvent être formalisés dans le modèle de différentes manières selon l'hypothèse sur le type d'interaction. En général, parmi différentes études d'interaction microbienne dans les aliments proposées dans la littérature, nous pouvons trouver deux types principaux d'interaction selon deux hypothèses (1) « proie-prédateur - Lotka-Volterra » et (2) « compétition - effet Jameson ». Pour illustrer ces deux types d'interaction, prenons par exemple un modèle primaire de croissance de deux espèces A et B dont la forme générique se présente comme suit (Cornu et al., 2011):

$$\begin{cases} y_A(t) = \dfrac{dN_A(t)}{N_A(t)dt} = \mu_{\mathrm{maxA}}.\delta_A(t).g_A(t), \\ \\ y_B(t) = \dfrac{dN_B(t)}{N_B(t)dt} = \mu_{\mathrm{maxB}}.\delta_B(t).g_B(t), \end{cases} , \qquad (Eq.I.7)$$

où $N_A(t), N_B(t)$ correspondent à la densité des populations A et B au temps t, μ_{maxA}, μ_{maxB} correspondent aux taux de croissance maximale des espèces A et B respectivement, $\delta_A(t)$ et

$\delta_B(t)$ sont des fonctions dites d'ajustement ($\delta(t) = 0$ si le temps t est inférieur à la phase de latence et $\delta(t) = 1$ sinon), et $g_A(t), g_B(t)$ (fonctions inhibitrices) décrivent les interactions. Pour les interactions de type Lotka-Volterra, l'hypothèse sous-jacente a été émise historiquement dans les modèles en écologie où la relation « proie-prédateur » décrit le fait que l'évolution de la densité d'une population peut faire augmenter ou diminuer celle d'une autre (Dens et al., 1999; Vereecken et al., 2000). Cet effet d'une population sur l'autre peut être formalisé par un coefficient d'interaction à pondérer dans la densité de chaque population, comme par exemple avec les fonctions inhibitrices $g_A(t), g_B(t)$ comme suit :

$$\begin{cases} g_A(t) = \left(1 - \dfrac{N_A(t) + \alpha_{AB}.N_B(t)}{N_{maxA}}\right), \\ g_B(t) = \left(1 - \dfrac{N_B(t) + \alpha_{BA}.N_A(t)}{N_{maxB}}\right), \end{cases} \qquad (Eq.I.8)$$

où le coefficient de pondération α_{AB} (resp. α_{BA}) décrit l'effet de l'espèce A sur B (resp. B sur A). Quant à l'effet Jameson, l'hypothèse sous-jacente consiste à décrire « une course entre les deux espèces pour l'utilisation des ressources environnementales pour maximiser la croissance et la course s'arrête quand les ressources sont appauvries » (Jameson et al., 1962; Mellefont et al., 2008; Ross et al., 2000). La fonction inhibitrice (contrainte environnementale) est donc commune pour les deux espèces A et B, et peut prendre par exemple une forme générique comme proposé dans un modèle développé par Gimenez and Dalgaard (2004) :

$$g_A(t) = g_B(t) = g(t) = \left(1 - \frac{N_A(t)}{N_{maxA}}\right)\left(1 - \frac{N_B(t)}{N_{maxB}}\right). \qquad (Eq.I.9)$$

Basées sur ces deux types d'interactions ainsi que leurs variantes, les approches de modélisation d'interactions microbiennes dans les aliments ont largement développées dans la littérature. Nous pouvons citer quelques exemples d'études de modélisation de l'interaction microbienne dans le lait (Quinto et al., 2018), la viande le bœuf (Powell et al., 2004), le salami (Giuffrida et al., 2008), le fromage (Mounier et al., 2008), le saumon fumé (M.-L. Delignette-Muller et al., 2006; Gimenez & Dalgaard, 2004; Mejlholm & Dalgaard, 2007) ou encore les salades (Breidt & Fleming, 1998; Crépet et al., 2009; Valero et al., 2007). Une application des modèles d'interaction dans les études de l'altération, tout comme pour les modèles présentés précédemment pour un seul organisme, consiste à prévoir le comportement d'une ou de plusieurs espèces ciblées *a priori* altérantes en présence d'autres espèces. Ces modèles ont également d'autres applications possibles dans la sécurité des aliments comme par exemple décrire des relations antagonistes entre des microorganismes pathogènes et d'autres espèces (généralement du groupe des bactéries lactiques) pouvant avoir un rôle inhibiteur et/ou altérant.

Une finalité des approches de modélisation de réponses microbiennes, avec des modèles primaires ou secondaires pour un ou plusieurs organismes, est de comprendre leur comportement via l'estimation des paramètres du modèle caractérisant les réponses étudiées (par exemple les taux de croissance, coefficients d'interaction, etc.). L'estimation de paramètres, qui revient à l'ajustement du modèle aux données expérimentales, a recours à de la régression non linéaire (Davey, 1989; Schoolfield et al., 1981). Il s'agit en général de minimiser l'écart entre les données observées et les courbes théoriques du modèle. Plusieurs métriques pour caractériser cet écart ont été utilisées dans la littérature, nous pouvons citer par exemple la somme des carrés des résidus (*« Sum of Squared Errors »*, SSE) (Breidt & Fleming, 1998; M. H. Zwietering et al., 1990), la somme des carrés des résidus pondérés (*« Weighted Sum of Squared Errors »,* WSSE) (Geysen et al., 2006) ou encore l'erreur quadratique moyenne (*« Root Mean Squared Error »,* RMSE) (da Silva et al., 2017; Valero et al., 2007). L'estimation des paramètres peut être faite par la minimisation (optimisation) de ces métriques avec des algorithmes de maximisation de vraisemblance et de régression non linéaire pour modèles avec fonctions explicites (M. L. Delignette-Muller, 2009), des approches d'optimisation par discrétisation numérique pour modèles à équations différentielles (Soetaert et al., 2010), ou encore par des approches d'estimation de paramètres par inférence bayésienne (Crépet et al., 2009; Dagnas et al., 2014).

En microbiologie prévisionnelle, si l'estimation des paramètres de modèle est une étape essentielle pour comprendre le comportement microbien, elle peut toutefois revêtir une difficulté majeure associée parfois à un grand nombre de paramètres à estimer au regard du nombre de données expérimentales collectées. Cette difficulté peut être encore plus importante, dans un cadre d'étude de l'altération de la viande fraîche, dans lequel le ou les microorganismes responsables de l'altération ne sont pas toujours connus *a priori*, ce qui nécessite d'inclure un grand nombre d'espèces potentiellement altérantes dont on souhaite étudier le comportement dans la matrice alimentaire (présence, croissance, etc.). Dans cette optique d'intégration, avec la collecte de beaucoup d'information sur plusieurs espèces et l'arrivée des techniques récentes de séquençage haut-débit (Cao et al., 2017; Cardinali et al., 2017) qui donnent accès à une vision plus complète de l'écosystème microbien sur la matrice alimentaire, en complément de la microbiologie prévisionnelle, les études de l'altération voient émerger une discipline qui consiste à analyser de nouvelles données expérimentales de plus en plus accessibles en grandes quantités. Le type d'analyse de l'ensemble de ces données associées à la mesure de différentes réponses pour décrire un phénomène biologique global est appelé « analyse multivariée ». Dans la partie 2 suivante, une synthèse des méthodes d'analyse multivariée couramment utilisées dans un cadre d'étude de l'altération de la viande sera présentée.

2 Description de l'altération par analyses multivariées

2.1 Tableau de données multivariées : Généralités et exemples dans l'étude de l'altération

Les analyses multivariées prennent une place de plus en plus importante en microbiologie alimentaire pour répondre au besoin d'analyse de jeux de données de « grande dimensions» issus d'analyses de séquençage ou d'autres techniques expérimentales récentes. Ces données sont de « grande dimension » car le nombre de réponses mesurées (ou « variables ») peut être très élevé pour décrire un phénomène biologique. Par exemple, pour les données de composition du microbiote (l'ensemble des microorganismes) issues de séquençage, la densité de plusieurs centaines de bactéries peut être mesurée sur un ou plusieurs échantillons (parfois appelés aussi « individus » ou encore « observations » dans la littérature) (Benson et al., 2014; Rahkila et al., 2012). Les données multivariées peuvent être également « hétérogènes », ce qui fait référence au fait que les mesures de différents types de réponses sur les mêmes échantillons peuvent être recueillies dans le tableau. Nous pouvons citer par exemple les travaux de Jääskeläinen et al. (2016) portant à la fois sur la composition de la communauté microbienne de la viande de bœuf ainsi que la quantification de composés organiques volatils. Ces différents types de réponses constituent donc des « blocs » (sous-ensembles du tableau) différents de réponses du tableau de données à analyser. Enfin, les différents échantillons peuvent être également classés dans différents groupes dans le tableau en général en fonction des facteurs (variables) indépendant(e)s. Par exemple, une étude de Fontana et al. (2016) porte sur la description de la communauté bactérienne dans différents échantillons de saucisses issus de deux techniques de production. L'enjeu principal des analyses multivariées consiste à explorer l'ensemble de ces données expérimentales et à en tirer les informations. En pratique, il y a plusieurs manières d'organiser les données (blocs de réponses, groupes d'échantillons) dans les lignes et colonnes d'un tableau. Un exemple d'organisation de données en tableau est schématisé dans la Figure I. 11.

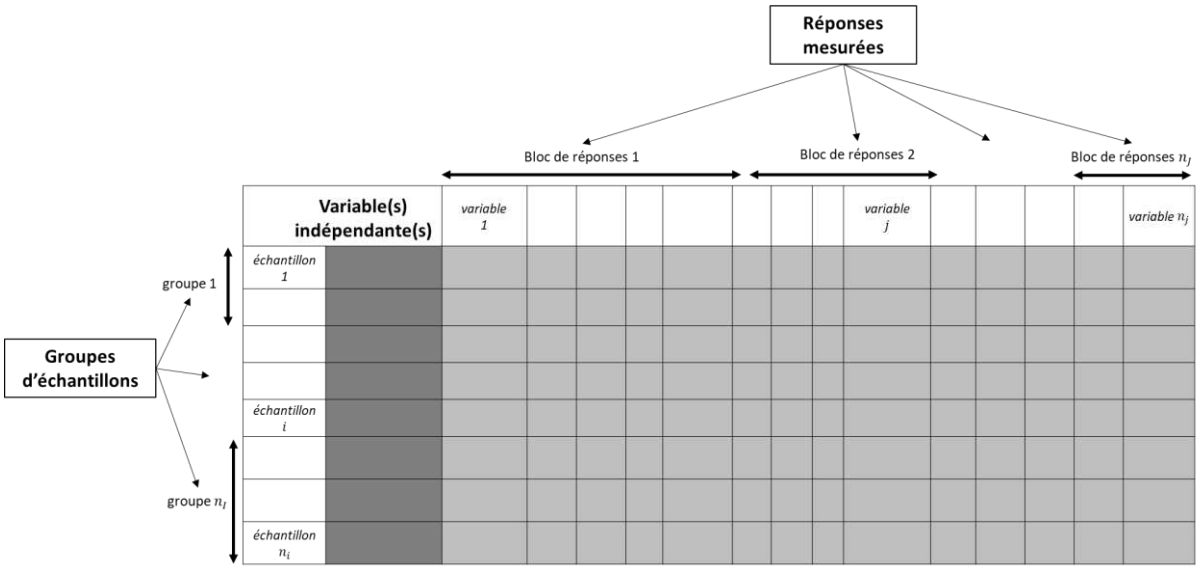


Figure I. 11 Exemple de manière d'organiser les lignes et colonnes d'un tableau contenant plusieurs blocs de réponses mesurées sur plusieurs échantillons classés dans différents groupes en fonction des variables indépendantes. n_i et n_j correspondent aux nombres totaux d'échantillons et de variables, respectivement. n_I et n_J correspondent aux nombres totaux de groupes d'échantillons et de blocs de réponses, respectivement.

Le principe général des analyses multivariées consiste à faire des transformations de variables à l'aide de différents techniques de projection de celles-ci dans de nouvelles dimensions afin d'y chercher une configuration différente des échantillons permettant ainsi d'identifier d'éventuelles relations entre variables/échantillons. On parle donc de recherche de structure des données. En fonction des questions de recherche, la façon de transformer les variables varie d'une analyse à l'autre selon différents critères d'optimisation pour la recherche de nouvelles dimensions. Une illustration intuitive de ces critères est décrite ci-dessous dans la Figure I. 12.

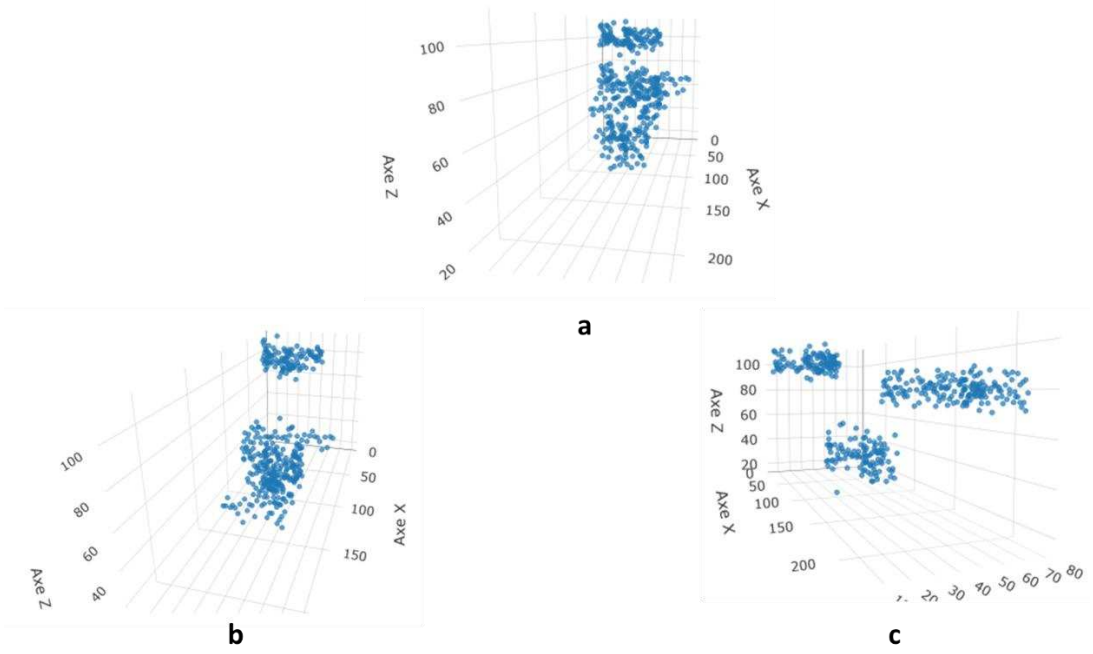


Figure I. 12 Illustration de différentes manières de visualisation d'un jeu de données (données fictives). a. Représentation initiale du nuage de points. b. Représentation visant à écarter deux groupes a priori connus. c. Représentation visant à disperser tous les points. Visualisation interactive sur https://luongngocdu.shinyapps.io/RotateMe/.

Considérons un jeu de données fictives, collectées pour trois variables sur plusieurs échantillons issus de deux groupes distincts, représentées sous forme d'un nuage de points comme dans la Figure I. 12a. Sous cet angle de représentation, les données semblent être indépendantes et aucune structure particulière des points n'est visible. Posons par exemple une première question : « Quelles réponses mesurées permettent de distinguer au mieux nos deux groupes d'échantillons étudiés ? ». Notre analyse doit ainsi chercher une transformation adéquate des variables (pivoter les axes de représentation) permettant de maximiser l'écart entre les deux groupes connus (Figure I. 12b). Il s'agit du principe, par exemple, d'une Analyse Discriminante Linéaire (ADL) qui maximise la variance inter-groupes (Chen et al., 2014). Si toutefois nous souhaitons savoir comment l'ensemble de tous nos échantillons se comporte en tenant compte des réponses mesurées, on s'intéresse alors à une analyse visant à disperser au mieux tous les points, ce qui peut révéler une configuration particulière des échantillons (3 petits nuages de points, Figure I. 12c). Pour ce faire, une Analyse en Composantes Principales maximisant la variance totale est très couramment utilisée (Limbo et al., 2010; Viana et al., 2005). D'autres questions de recherche peuvent être posées en regardant ce même jeu de données, par exemple si l'on cherche à savoir comment regrouper au mieux nos échantillons en se basant sur leur similarité dans les réponses mesurées (distance entre les points), ce qui fait référence à des approches de classification (illustration non montrée) (Ercolini et al., 2010; Rahkila et al., 2012).

Les différents types de réponses mesurées ainsi que les approches d'analyse utilisées dans plusieurs études récentes (2000-2018) sur l'altération microbiologique de la viande sont recensés dans la Table I. 4. Les données collectées dans ces études concernaient principalement les réponses décrivant les descripteurs sensoriels des produits carnés étudiés, la composition du microbiote présent dans ces produits et la quantification de composés biochimiques comme des composés organiques volatils ou des amines biogènes. Les descripteurs sensoriels pouvaient être (i) soit d'analyses sensorielles par un panel pour évaluer différents types d'odeurs ou les aspects visuels (texture/apparence globale, etc.), et (ii) soit mesurés par instrument comme pour la mesure de couleur ou de texture. La composition du microbiote (communauté principalement bactérienne) était obtenue le plus souvent par séquençage du gène codant pour l'ARN ribosomique 16S (16S rRNA). L'identification et la quantification des composés chimiques étaient réalisées principalement par chromatographie en phase liquide (HPLC) ou en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). En ce qui concerne les méthodes d'analyse de données utilisées, nous les distinguons, en cohérence avec notre manière d'organiser le tableau présentée précédemment (Figure I. 11), deux groupes d'approches qui sont présentés ci-dessous dans les parties 2.2 et 2.3 respectivement.

2.2 Structure d'un bloc de réponses

Le premier groupe d'approche concerne les analyses des données issues de la mesure d'un seul type de réponses (un seul bloc de réponses). L'objectif principal de ces analyses est de rechercher des structures au sein d'un bloc, notamment des relations entre les échantillons (ou groupes d'échantillons) ou entre les réponses mesurées. Pour ce faire, différentes méthodes sont utilisées dans le cadre de l'étude de l'altération comme indiqué dans la Table I. 4.

Les analyses de variance dans les tableaux se révèlent des approches simples et très couramment utilisées, notamment pour la comparaison entre échantillons groupés *a priori* par différentes modalités d'un ou de plusieurs facteurs qualitatifs. Nous pouvons par exemple citer les travaux de Ruiz Capillas and Jiménez Colmenero (2010) sur la comparaison de différents aspects sensoriels évalués par un panel (apparence globale, couleur, odeur, exsudat, acceptabilité globale) des saucisses de porc conditionnées sous quatre atmosphères protectrices. Les tableaux (blocs) étant multivariés, les analyses de variance peuvent toutefois être réalisées sur les réponses (i) soit une par une de manière indépendante classiquement par ANOVA ou des tests de comparaison de moyennes (Balamatsia et al., 2006; Lacroix et al., 2002), (ii) soit sur l'ensemble des réponses par exemple avec la méthode d'analyse multivariée par permutation (PERMANOVA), comme les études menées par Kiermeier et al. (2013) ou Stellato et al. (2016) visant à comparer la composition du

microbiote (dans son ensemble) sur la viande entre différentes conditions d'atmosphères et de distribution.

L'analyse en composante principale (ACP) est aussi utilisée dans la recherche de structure d'un bloc de données. Il s'agit d'une méthode permettant d'identifier d'éventuelles relations entre échantillons et entre réponses. Par exemple, une étude de Kuuliala et al. (2018) a cherché à savoir si les différents composés volatils différenciaient les échantillons conditionnés sous différentes atmosphères et également s'il y avait des composés fortement liés entre eux. L'analyse de corrélation, utilisant par exemple la corrélation de Pearson ou Spearman, peut être aussi utilisée pour évaluer la relation entre réponses (Fontana et al., 2016; Senter et al., 2000). D'autres méthodes d'analyses sont également utilisées pour chercher la configuration des échantillons tout en prenant en compte leur regroupement *a priori*, par exemple en utilisant des analyses discriminantes (Ammor et al., 2009; Argyri et al., 2011). Les méthodes d'ordination basées sur le calcul des distances, comme l'analyse en coordonnées principales (PCoA) ou le positionnement multidimensionnel non-métrique (en anglais *« Non-metric Multidimentional Scaling »,* NMDS) peuvent être aussi utilisées pour évaluer la ressemblance (similarité) entre échantillons biologiques, par exemple en se basant sur la composition du microbiote (Raimondi et al., 2018). Enfin, des méthodes de classification sont utilisées pour regrouper les échantillons en se basant sur la distance entre eux (similarité/dis similarité) (Ercolini et al., 2010; Fontana et al., 2016; Mikš-Krajnik et al., 2016).

2.3 Couplage de données

Le second groupe de méthode d'analyse multivariée concerne l'ensemble des données issues de différents blocs de données du tableau, ce qui correspond à différents types de réponses mesurées. Parfois appelées « approches de couplage de tableaux », « intégration de données, « fusion de données » ou encore « multi-bloc », ces approches ont en général pour but de rechercher des structures de données tout en mettant un accent sur le(s) lien(s) entre ces différents (blocs) types de réponses.

Parmi les analyses utilisées dans le cadre de l'étude de l'altération de la viande, la méthode la plus courante est la régression des moindres carrées partiels (*« Partial Least Squares Regression »,* PLS-R) (Argyri et al., 2011; Jiang & Bratcher, 2016; Nieminen et al., 2016). En général, cette méthode se veut explicative car elle réalise une régression pour expliquer un bloc de réponses par un autre, et montre plusieurs avantages par rapport aux méthodes dites « classiques » de régression linéaire multiple, notamment par la prise en compte de la multi-colinéarité entre réponses, la possibilité d'avoir simultanément plusieurs réponses à expliquer ainsi que le nombre élevé de réponses par rapport à celui des échantillons (Tenenhaus & Vinzi, 2005; Wold, 1982, 1985). Ces avantages de la PLS-R l'ont rendue très

adaptée aux études de l'altération identifiées jusqu'ici, où sont intervenues par exemple les données de séquençage où les abondances de plusieurs dizaines d'espèces de microorganismes étaient potentiellement corrélées entre elles. Nous pouvons citer un exemple d'étude de Holm et al. (2012) qui utilise la PLS-R pour chercher à expliquer trois descripteurs olfactifs mesurés sur les saucisses par un ensemble de 60 composés aromatiques.

Une autre méthode utilisée pour évaluer un lien entre deux blocs de données est l'analyse de co-inertie, par exemple dans les travaux de Botta et al. (2018) qui cherchaient à structurer les données en couplant la composition du microbiote et le volatilome. Le lien entre chacune des réponses d'un bloc et celles d'autres blocs peut être évalué également par l'étude de corrélation (corrélation de Spearman) (Botta et al., 2018; Stellato et al., 2016). Enfin, quelques rares études ont développé des méthodes de prédiction de profil sensoriel par spectrométrie comme la *Support Vector Machine Regression* (SVM-R), *Artificial Neural Network* (ANN) (Papadopoulou et al., 2011; Pavli et al., 2018).

Table I. 4 Approches d'analyses de données multivariées proposées dans différentes études récentes (2000-2018). Etudes avec données de grande dimension sélectionnées à l'issue de la revue systématique sur les études de l'altération microbiologique des produits carnés (cf. Partie I.A) (Luong et al., 2020a). Critères de sélection pour les études: Etudes avec (i) au moins 3 descripteurs sensoriels, ou (ii) Détermination de profils chimiques/biochimiques/microbiologiques avec techniques permettant de mesurer simultanée plus de 3 réponses (exemple : données de séquençage, quantification des composés volatils). Les études avec uniquement les mesures « courantes » n'ont pas été retenues (exemple : dénombrement de la charge bactérienne sur milieu de culture, mesure de pH, mesure unique de l'oxydation (TBARS), etc.).

Année	**Etudes**	**Réponses**	**Techniques expérimentales**	**Approches d'analyse de données**
2000	Lacroix et al. (2000)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle, Mesure de couleur / texture	Analyse de variance (ANOVA), Test de comparaison de moyenne de Student t-test, Test de rang multiple de Duncan
		Quantification de protéines	Analyse de protéines par réactif Ellmans	
	Senter et al. (2000)	Quantification de composés soufrés	Analyse HS-GC-MS	Analyse de variance (ANOVA), Analyse de corrélation (Pearson)
2002	Lacroix et al. (2002)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle, Mesure de couleur / texture,	Analyse de variance (ANOVA), Test de comparaison de moyenne de Student t-test, Test de rang multiple de Duncan
		Quantification de protéines	Analyse de protéines	
2004	Smolander et al. (2004)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de corrélation
		Indicateurs Temps-Température	Indicateurs TTI	
	Vermeiren et al. (2004)	Propriété antimicrobienne	Mesure de la zone inhibitrice	-
2005	Viana et al. (2005)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse en composantes principales (ACP)
2006	Balamatsia et al. (2006)	Quantification d'amines biogènes	Analyse HPLC	Analyse de variance (ANOVA)
2007	Brightwell et al. (2007)	Composition du microbiote	Séquençage 16S rRNA	-
	del Río et al. (2007)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance, Test de Wilcoxon-Mann-Whitney

Année	Etudes	Réponses	Techniques expérimentales	Approches d'analyse de données
	Vestergaard et al. (2007)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle,	Analyse en composantes principales (ACP), Régression ANOVA-Partial Least Squares (APLSR)
		Quantification de composé volatile	Utilisation de "Electronic nose"	
	Vihavainen and Björkroth (2007)	Composition du microbiote	Séquençage 16S/23S rRNA	Classification (UPGMA Clustering)
2008	Friedrich et al. (2008)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse discriminante canonique, Analyse de variance (Modèle Linéaire Généralisé)
		Quantification de composés volatiles	Utilisation de "Electronic nose"	
2009	Ammor et al. (2009)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse en Composantes Principales (ACP), Analyse factorielle discriminante (AFD), Régression Partial Least Squares (PLS-R)
		Profil biochimique	Spectrométrie FTIR	
	Economou et al. (2009)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance (ANOVA)
	Leroy et al. (2009)	Volatilome	Analyse HS-GC-MS	Modélisation dynamique de métabolites
2010	Argyri et al. (2010)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse en Composantes Principales (ACP), Multilayer perceptron (MLP) network
			Spectrométrie FTIR/ATR	
	Díaz et al. (2010)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance (ANOVA)
	Ercolini et al. (2010)	Composition du microbiote	Typage moléculaire	Classification (UPGMA Clustering), Analyse de variance (ANOVA)
		Volatilome	Analyse SMPE-GC-MS	
		Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	
	Limbo et al. (2010)	Descripteurs sensoriels,	Mesure de couleur	Analyse en Composantes Principales (ACP)
		Quantification de composés volatiles	Utilisation de "Electronic Nose"	

Année	Etudes	Réponses	Techniques expérimentales	Approches d'analyse de données
	Ruiz Capillas and Jiménez Colmenero (2010)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance (ANOVA)
			Mesure de couleur	
		Quantification d'amines biogènes	Analyse de chromatographie	
2011	Argyri et al. (2011)	Profil chimique	Analyse HPLC	Analyse en Composantes Principales (ACP), Analyse factorielle discriminante (AFD), Régression des moindres carrés partiles (PLS-R)
	Hasapidou and Savvaidis (2011)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance (ANOVA)
	Papadopoulou et al. (2011)	Quantification de composés volatiles	Utilisation de "Electronic Nose"	Analyse en Composantes Principales (ACP), Support Vector Machine (SVM)
	Torrieri et al. (2011)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Détermination d'indicateur de qualité (QI), Analyse de variance (ANOVA)
2012	Bañón et al. (2012)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance (ANOVA)
			Mesure de couleur	
	Coutinho de Oliveira et al. (2012)	Profil de composés chimiques	Analyse GC-MS	Analyse de variance (ANOVA)
		Descripteurs sensoriels	Mesure de couleur / Texture	
	Holm et al. (2012)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse en Composantes Principales (ACP), Régression des moindres carrés partiels (PLS-R)
		Volatilome	Analyse GC-MS	
	La Storia et al. (2012)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse en Composantes Principales (ACP),
			Mesure de couleur,	
		Volatilome	Analyse HS-GC-MS	

Année	Etudes	Réponses	Techniques expérimentales	Approches d'analyse de données
	Lorenzo and Gómez (2012)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance (ANOVA), Analyse en Composantes Principales (ACP)
	Rahkila et al. (2012)	Composition du microbiote	Séquençage 16S rRNA	Classification (UPGMA)
2013	Argyri et al. (2013)	Profil biochimique	Spectrométrie FTIR-ATR / Raman	Régression des moindres carrés partiels (PLS-R) (PLS-R), Genetic Programming (GP), Genetic Algorithm (GA), Artificial Neural Network (ANNs), Support Vector Machine Regression (SVR)
	Holm et al. (2013)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse en Composantes Principales (ACP), Régression des moindres carrés partiels (PLS-R), Analyse de variance (ANOVA)
		Volatilome	Analyse GC-MS	
	Jääskeläinen et al. (2013)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance (ANOVA)
		Volatilome	Chromatographie	
		Niveau d'expression de gène	Analyse transcriptomique	
	Kiermeier et al. (2013)	Composition du microbiote	Séquençage 16S rRNA	Analyse canonique des coordonnées principales (CAP), Analyse multivariées de variance par permutations (PERMANOVA)
	Murphy et al. (2013)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	ANOVA-Partial Least Square regression (APLSR)
	Triki et al. (2013)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle, Mesure de couleur	Analyse de variance (ANOVA)
		Quantification d'amines biogènes	Analyse par chromatographie	
2014	Benson et al. (2014)	Composition du microbiote	Séquençage 16S rRNA	Analyse de corrélation, Régression linéaire, Classification

Année	Etudes	Réponses	Techniques expérimentales	Approches d'analyse de données
	Crist et al. (2014)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle, Mesure de couleur	Analyse de variance (ANOVA)
	Huang et al. (2014)	Quantification d'amines biogènes	Analyse HPLC,	Analyse en Composantes Principales (ACP), Régression des moindres carrés partiels (PLS-R)
		Mesure de couleur	Capteur colorimétrique	
	Kapetanakou et al. (2014)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle, Mesure de couleur	Analyse de variance (ANOVA)
		Profil glucose/acide organique	Analyse HPLC	
	Latou et al. (2014)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance (ANOVA), Analyse de corrélation
	Lavieri and Williams (2014)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle, Mesure de couleur	Analyse de variance (ANOVA)
	Li et al. (2014)	Quantification d'amines biogènes	Analyse HPLC	Analyse en Composantes Principales (ACP)
	Ortuño et al. (2014)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance
			Mesure de couleur	
		Volatilome	Analyse HS-SPME-GC-MS	
	Panea et al. (2014)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse procrustéenne généralisée (GPA)
	Serrano et al. (2014)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle, Mesure de couleur	Analyse de variance (ANOVA)
2015	Argyri et al. (2015)	Volatilome	Analyse HS-SPME-GCMS	Analyse en Composantes Principales (ACP), Analyse factorielle discriminante (AFD), Régression des moindres carrés partiels (PLS-R), Classification hiérarchique (HAC)

Année	Etudes	Réponses	Techniques expérimentales	Approches d'analyse de données
	Chaillou et al. (2015)	Composition du microbiote	Séquençage 16 rRNA	Classification hiérarchique, Multiscale Bootstrap Resampling
	Pereira et al. (2015)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance (ANOVA)
	Rossaint et al. (2015)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Détermination d'indicateur de qualité (QI), Analyse de variance
	Stahl et al. (2015)	Volatilome	Analyse HS-GC-MS	Analyse de corrélation
		Descripteurs sensoriels	Mesure de couleur / Texture	
	Stoops et al. (2015)	Composition du microbiote	Séquençage 16S rRNA	Analyse de variance (ANOVA)
2016	Chulayo et al. (2016)	Descripteurs sensoriels	Mesure de couleur / Texture	Analyse en Composantes Principales (ACP), Analyse canonique de corrélation (CCA)
		Quantification de protéine/glucose, Analyses physico-chimiques	Technique ELISA, Analyse par colorimétrie	
	Fontana et al. (2016)	Composition du microbiote	Séquençage 16S rRNA	Classification hiérarchique, Analyse de corrélation (Pearson)
		Quantification d'amines biogènes	Techniques biochimiques de caractérisation d'isolat	
		Activité protéolytique/lipolytique		
	Fougy et al. (2016)	Composition du microbiote	Séquençage 16S rRNA	Classification hiérarchique, Analyse en Composantes Principales (ACP), Analyse factorielle des correspondances (AFC)
		Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	
	Höll et al. (2016)	Composition du microbiote	Identification par MALDI-TOF	-
	Jääskeläinen et al. (2016)	Composition du microbiote	Séquençage 16S rRNA	Non-metric multidimensional scaling (NMDS), Classification
		Volatilome	Analyse SPME-GC-MS	

Année	Etudes	Réponses	Techniques expérimentales	Approches d'analyse de données
		Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	
	Jiang and Bratcher (2016)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse en Composantes Principales (ACP), Régression des moindres carrés partiels (PLS-R)
		Profil métabolique	Analyse par spectrométrie	
	Mann et al. (2016)	Composition du microbiote	Séquençage 16S rRNA	Détermination de matrice de dis-similarité
	Miks-Krajnik et al. (2016b)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Régression des moindres carrés partiels (PLS-R), Classification hiérarchique
		Volatilome	Analyse SMPE-GC-MS	
	Nieminen et al. (2016)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Régression des moindres carrés partiels (PLS-R)
		Volatilome	Analyse GC-MS	
	Stellato et al. (2016)	Composition du microbiote	Séquençage 16S rRNA	Analyse multivariée des variances par permutations (PERMANOVA), Analyse en Composantes Principales (ACP)
2017	Bellés et al. (2017)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance (Modèle linéaire généralisé GLM)
	Carrizosa et al. (2017)	Composition du microbiote	Séquençage 16S rRNA (isolat)	Analyse de variance (ANOVA)
	Del Blanco et al. (2017)	Volatilome	Analyse SMPE-GC-MS	Analyse de variance (ANOVA)
		Descripteurs sensoriels	Mesure de couleur	
	Kaur et al. (2017)	Composition du microbiote	Séquençage 16S rRNA	Multi-dimensional Scaling (MDS)
	Leticia et al. (2017)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance (ANOVA)
			Mesure de couleur	
		Quantification de lipide / acide gras	Méthode Soxlhet (Lipide)	

Année	Etudes	Réponses	Techniques expérimentales	Approches d'analyse de données
			Méthode Folch (Acide gras)	
	Riel et al. (2017)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance (ANOVA)
	Rodrigues et al. (2017)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance (ANOVA), Analyse de corrélation (Pearson)
	Säde et al. (2017)	Composition du microbiote	Séquençage 16S rRNA	Analyse de coordonnées principales (PCoA)
	Sirocchi et al. (2017)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance (ANOVA)
			Mesure de couleur	
	Van Haute et al. (2017)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance (ANOVA)
			Mesure de couleur	
	Wang et al. (2017)	Volatilome	Analyse SPME	Analyse de variance (ANOVA)
2018	Botta et al. (2018)	Volatilome	Analyse SPME-GC-MS	Analyse en Composantes Principales (ACP), Analyse de co-inertie
		Composition du microbiote	Séquençage 16S rRNA	
	Raimondi et al. (2018)	Composition du microbiote	Séquençage 16S rRNA	Analyse de coordonnées principales (PCoA)
	Rouger et al. (2018)	Composition du microbiote	Séquençage 16S rRNA	Classification hiérarchique par indice de raréfaction
	Stojanović-Radić et al. (2018)	Descripteurs sensoriels	Analyse sensorielle	Analyse de variance (ANOVA)
			Mesure de couleur / Texture	

Conclusion du chapitre

L'étude de l'altération des produits carnés est réalisée en général par différentes méthodes de suivis expérimentaux où plusieurs réponses associées à leur altération peuvent être mesurées à la fois sur le produit. Il s'agit le plus couramment de réponses issues d'analyses de profils physico-chimiques et/ou de la qualité microbiologique des produits, ainsi que d'analyses sensorielles pour évaluer leur qualité organoleptique. Basées sur ces différentes analyses expérimentales, plusieurs stratégies de préservation peuvent être mises en place, et l'évaluation de la performance de celles-ci se fait généralement au regard des réponses mesurées au cours du stockage. Les réponses peuvent être très variables d'une étude à l'autre car le phénomène d'altération peut être considéré sous différents points de vue : sensoriel, physicochimique ou microbiologique. D'un point de vue proche du consommateur, les réponses issues d'analyses sensorielles, comme la perception d'une odeur d'altération, un changement de couleur ou de texture, sont couramment étudiées dans la littérature. D'un point de vue physicochimique et microbiologique, certaines réponses dites « simples » sont très utilisées comme la mesure du pH, l'oxydation, la teneur en gaz ou encore les dénombrements de microorganismes sur milieu de culture sélectif considérés comme indicateurs d'altération. Dans un cadre d'étude de l'altération microbiologique, la viande fraîche est considérée comme une matrice alimentaire complexe notamment en raison de l'écosystème microbien présent sur le produit. A l'aide de nombreuses techniques expérimentales récentes, nous avons à ce jour accès à des données dites « complexes » (pour leur côté hétérogène et de grande dimension), permettant de caractériser les profils physicochimiques ou l'écosystème de microorganismes dans la globalité.

L'étude de l'altération au regard de toutes ces données acquises suscite plusieurs questions de recherche: (i) d'un point de vue pratique en industrie, comment une stratégie de préservation peut-elle influencer des réponses simples couramment utilisées pour le suivi de l'altération pendant le stockage ; (ii) est-il possible de formaliser cette influence sur les réponses courantes dans une optique de proposer un outil de prévision de l'altération (iii) ces réponses courantes suffisent-elles pour cette prévision et sinon quels(s) type(s) de données faut-il intégrer (sensorielles, physicochimiques ou microbiologiques) ? (iv) comment faire le lien entre ces données pour mieux comprendre le phénomène d'altération ? Plusieurs méthodes de modélisation et d'analyses statistiques ont été employées pour décrire l'altération, elles représentent toutefois quelques limites. En effet, d'une part, les méthodes de microbiologie prévisionnelle développées ne permettent pas de décrire le comportement de tout l'écosystème microbien complexe présent sur la viande fraîche. D'autre part, les approches d'analyse multivariées utilisées jusqu'ici dans le cadre de l'étude de l'altération microbiologique n'ont pas encore permis d'identifier les relations de causalité spécifiques entre les différentes réponses dans de nombreux cas complexes, notamment quand une ou

plusieurs réponses mesurées peuvent être considérées à la fois comme la cause et conséquence d'autres réponses.

La finalité du projet consiste à décortiquer la relation entre œs différents aspects microbiologiques, physicochimiques et sensoriels du phénomène d'altération de la viande fraîche conditionnée selon différentes stratégies de préservation. Pour ce faire, un jeu de données expérimentales a été acquis pour un suivi de différents types de réponses d'altération et une stratégie d'étude en plusieurs étapes a été développée, en partant des approches d'analyse de données simples, adaptées ensuite à nos questions de recherche, pour aller enfin vers le développement de méthodes plus sophistiquées avec l'intégration de données complexes. Les saucisses fraîches de volaille et de porc produites avec différentes formulations en lactate de potassium et conditionnées sous différentes atmosphères protectrices ont été choisies comme cas d'étude de ce projet. Une présentation générale de l'ensemble des données acquises est faite dans le chapitre II. Les différentes étapes de la stratégie d'étude sont présentées respectivement dans les chapitres III, IV, V et VI.

Chapitre II – Données collectées

Présentation générale

L'acquisition des données expérimentales utilisées tout au long de cette thèse s'inscrit dans un projet financé par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) (projet REDLOSSES, n°ANR-16-CE21-0006) dont la finalité consistait à réduire la perte alimentaire associée à l'altération des produits carnés. Il s'agissait d'un projet mené par un consortium de différents collaborateurs (dont plusieurs établissements de recherches, centres techniques et également deux industriels des filières porc et volaille) et coordonné par l'unité de recherche Secalim. Ce projet pluridisciplinaire, visant à développer différentes méthodologies, à la fois en termes de techniques expérimentales et de modélisation en vue de mieux prévoir et comprendre le phénomène d'altération, nous a conduit à la collecte de différents types de données expérimentales, à la fois associées aux aspects microbiologiques, physicochimiques et aussi sensoriels, et sur deux matrices alimentaires différentes.

La réalisation et le financement de cette thèse de doctorat sont intimement liés à plusieurs étapes du projet REDLOSSES. En tant que doctorant, durant cette thèse, j'ai pu participer très activement à la collecte de données expérimentales en laboratoire sur la matrice « saucisses de volaille ». Il s'agissait notamment des étapes de conditionnement des saucisses en halle de technologie sous différentes atmosphères, de la réalisation des expérimentations de microbiologie classique (dénombrement sur milieu de culture), des mesures physicochimiques (mesure du pH et de gaz), de la collecte de microbiotes et de l'extraction d'ADN bactérien à partir d'échantillon de viande ainsi que de l'évaluation de défauts visuels. Cette phase d'acquisition de données a représenté les dix premiers mois de la thèse où plusieurs interactions avec nos collaborateurs ont été nécessaires. Toutes ces données collectées par le consortium ont été valorisées sous forme d'un article de données (*« data paper »)* publié dans le journal *Data in Brief.*

En résumé, ces données concernaient deux matrices alimentaires analysées de manière indépendante : saucisses de porc et de volaille. Ces dernières ont été produites par les deux industriels impliqués dans le projet en différents lots de production indépendants étalés sur différentes périodes de l'année et fournies ensuite aux différents collaborateurs (unité de recherche, centres techniques) pour l'échantillonnage à différents temps au cours du stockage réfrigéré. Pour chaque type de saucisses, plusieurs réponses ont été mesurées, à la fois sur les aspects microbiologiques (dénombrement sur milieu de culture sélectif ou non, détermination de la composition du microbiote par séquençage haut-débit), physicochimiques (mesures de gaz, mesure du pH, quantification des composés organiques volatils) ainsi que sensoriels (différentes étapes d'analyse sensorielle, évaluation de défauts visuels etc.). L'article de données est reproduit dans la partie suivante afin de fournir aux lecteurs une vue d'ensemble de toutes les données collectées. Cependant, dans cette thèse

qui est structurée en différentes étapes d'analyse pour répondre à différentes questions de recherche, les sous-ensembles de données utilisés pour chaque étape seront détaillés au fur et à mesure des analyses.

Publications des données

Large-scale multivariate dataset on the characterization of microbiota diversity, microbial growth dynamics, metabolic spoilage volatilome and sensorial profiles of two industrially produced meat products subjected to changes in lactate concentration and packaging atmosphere.

Simon Poirier[1,#], Ngoc-Du Martin Luong[2,#], Valérie Anthoine[2], Sandrine Guillou[2], Jeanne-Marie Membré[2], Nicolas Moriceau[2], Sandrine Rezé[2], Monique Zagorec[2], Carole Feurer[3], Bastien Frémaux[3], Sabine Jeuge[3], Emeline Robieu[3], Marie Champomier-Vergès[1], Gwendoline Coeuret[1], Emilie Cauchie[4], Georges Daube[4] , Nicolas Korsak[4], Louis Coroller[5], Noémie Desriac[5], Marie-Hélène Desmonts[6], Rodérick Gohier[6],Dalal Werner[6], Valentin Loux[7,10], Olivier Rué[7,10], Marie-Hélène Dohollou[8], Tatiana Defosse[9] and Stéphane Chaillou[1,§].

[1] Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Micalis Institute, 78350, Jouy-en-Josas, France

[2] INRAE, UMR1014 Secalim, Oniris. Nantes, France

[3] IFIP-Institut du Porc, Maisons-Alfort et Le Rheu, France.

[4] Université de Liège, Veterinary Medicine Faculty, Food Sciences, FARAH, 4000 Liège, Belgique.

[5] Université de Bretagne Occidentale, EA3882 Lubem, Quimper, France.

[6] Aerial, 67412 Illkirch, France.

[7] Université Paris-Saclay, INRAE, MaIAGE, 78350, Jouy-en-Josas, France.

[8] Cooperl, 22403 Lamballe Armor, France.

[9] Cellule Recherche et Innovation, Groupe LDC, Sablé sur Sarthe, France.

[10] Université Paris-Saclay, INRAE, BioinfOmics, MIGALE bioinformatics facility, 78350, Jouy-en-Josas, France.

[#] These authors contributed equally as first authors to this work.

Author for correspondence. Stéphane Chaillou (stephane.chaillou@inrae.fr)

Keywords

Meat spoilage, food microbiota, Microbial Ecology, metabolomic, metagenetic.

Abstract

Data in this article provide detailed information on the diversity of bacterial communities present on 576 samples of raw pork or poultry sausages produced industrially in 2017. Bacterial growth dynamics and diversity were monitored throughout the refrigerated storage period to estimate the impact of packaging atmosphere and the use of potassium lactate as chemical preservative. The data include several types of analysis aiming at providing a comprehensive microbial ecology of spoilage during storage and how the process parameters do influence this phenomenon. The analysis includes: the gas content in packaging, pH, chromametric measurements, plate counts (total mesophilic aerobic flora and lactic acid bacteria), sensorial properties of the products, meta-metabolomic quantification of volatile organic compounds and bacterial community metagenetic analysis. Bacterial diversity was monitored using two types of amplicon sequencing (16S rRNA and GyrB encoding genes) at different time points for the different conditions (576 samples for *gyrB* and 436 samples for 16S rDNA). Sequencing data were generated by using Illumina MiSeq. The sequencing data have been deposited in the bioproject PRJNA522361. Samples accession numbers vary from SAMN10964863 to SAMN10965438 for *gyrB* amplicon and from SAMN10970131 to SAMN10970566 for 16S rDNA amplicon.

Table II. 1 Specifications of the collected dataset.

Subject area	Applied Microbiology and Biotechnology
More specific subject area	Microbial ecology of food spoilage during industrial production.
Type of data	Table, figure, raw sequencing data
How data was acquired	Total aerobic mesophilic population was estimated on Plate Count Agar (PCA) (catalog no. CM0325, Oxoid for pork samples AEB520709, Biomerieux for poultry) while mesophilic lactic acid bacteria population was counted on de Man, Rogosa, and Sharpe (MRS) agar (catalog no. CM0361B; Oxoid for pork and AEB140652 for poultry). Both media were incubated for 48 h at 30°C to estimate the bacterial population size in CFU.g^{-1} of meat. Gas composition of the trays was assessed for all trays with CheckMate3 (Dansensor, France) or O_2/CO_2 analyzer (Oxybaby, WITT Gasetechnik GmbH & Co. KG, Germany) for pork and poultry sausages, respectively. The pH of sausages was measured using FiveGo FG2 with the electrode LE427-S7 (Mettler toledo, United States). Color (*L*, a*, b**) was assessed using the Minolta CR400 ChromaMeter (Grosseron, Nantes, France) in CIE-Lab scale. Volatile organic compounds (VOC) were determined by HS–GC–MS on a Varian 450 gas chromatograph (Varian, Palo Alto, CA, USA) coupled to a Varian 225-IT mass spectrometer (Varian), equipped with a CTC Combi PAL (CTC Analytics AG, Zwingen, Switzerland). Quantitative descriptive analysis (QDA) was performed using seven olfactory attributes by a trained sensory panel of 15 experts. DNA amplicon sequencing was carried out with Illumina MiSeq.

Data format	Raw, analyzed
Parameters for data collection	The type of meat used for production of sausage was the first parameter analyzed (raw pork sausages and raw poultry sausages). The second parameter was the time of storage from the raw meat material up to sausages at the end of storage (primary cuts, gut casing, spices and fat). The third parameter was meat batch variability along ten sampling campaigns which were conducted for each meat product. Finally, we analyzed two process parameters: one was the influence of three doses of potassium lactate (complete dose, half dose or zero dose) used as preservative as well as three packaging atmospheres (air, and two modified atmospheres i.e. 70%O_2/30%CO_2 and 50%N_2/50%CO_2,).
Description of data collection	Meat samples were collected directly in two independent factories in France, just out of the production line. The large-scale sampling strategy was organized over a period of six months from July to December 2017.
Data source location	Samples related to pork sausages were collected in Lamballe (France, latitude: 48.4667, longitude: -2.5167) while samples related to poultry sausages were collected in Sablé-sur-Sarthe (France, latitude: 47.8376, longitude: -0.3329).
Data accessibility	Data are available as supplementary tables (Excel spreadsheets) at the institutional INRAE data repository: https://doi.org/10.15454/UDQLGE. The sequencing data have been deposited in the bioproject PRJNA522361.

Value of the data

Those data provide a link between meat spoilage (bacterial counts, pH, colour, volatile metabolic spoilage compounds non-targeted quantification further referred as “volatilome” and sensorial profiles), the packaging atmosphere, and the use of lactate and microbiota composition.

Sequencing data can be used to understand the variation of bacterial community dynamics, abundance and diversity in these two meat products according to the type of meat and packaging atmosphere, and the use of lactate.

Sequencing data can be used to identify biomarkers of spoilage. Accessibility to 16S rDNA and *gyrB* OTU (Operational Taxonomic Unit) data and detailed associated metadata allows researchers to perform new analyses with their own research purposes.

Ten independent sampling campaigns were conducted for two meat products. A wide number of conditions were tested (three lactate concentrations and three packaging atmospheres). This large-scale sampling strategy in which over 550 samples were sequenced, at four

different time points (from day 0 to day 22 of storage) provides a unique dataset for powerful statistical analysis of process parameters influencing raw meat sausage spoilage.

Data description

In the EU 20% of the initial meat production is lost, more than half occurring at animal production, slaughtering, processing and distribution steps (J. Gustavsson et al., 2011; Kummu et al., 2012). This crucial economic and environmental issue in food industry is in part attributed to spoilage during storage, which is the consequence of bacterial growth and subsequent metabolic activities causing organoleptic changes of the final product unacceptable for human consumption (defects in texture, colour, odour, taste or aspect) (Remenant et al., 2015).

For industrial meat producers, predicting accurate used-by-dates for their products based on spoilage occurrence remains a big challenge. The lack of large-scale multivariate data generated and associated with specific meat productions is one of the gaps that needs to be filled before such challenge could be overcome. The objective of this project was thus to provide such dataset based on a large collaborative project between academic partners, technical centres, and two industrial producers. We collected over a six-months production period, much comprehensive information on the dynamics of bacterial communities and physico-chemical variables associated with meat spoilage along the processing steps. Processed pork and poultry meat (sausages) were chosen as two examples of spoilage sensitive meat products that are among the most consumed in France. Products included all sausages ingredients (meat cuts, gut casing, spice mixes, and fat) to cover the whole meat process. The experimental work consisted in determining the diversity and the dynamics of bacterial communities during food processing and storage, and correlating them with spoilage occurrence. In the frame of this project, sensory and non-targeted metabolic volatilome analyses were performed in order to characterize the meat product spoilage in relation with food processing factors like concentration of chemical preservatives (potassium lactate) and gas composition of storage packaging. The originality of this project was to integrate biotic (microbial ecology), abiotic (sensory attributes and storage conditions) and temporal factors (monitoring along processing steps) to generate heterogeneous multivariate data for used-by-date predictive mathematical models. Figure II. 1 illustrates the global experimental design of this study. Links to supplementary data (available as spreadsheets) presented in Table II. 2 include all the metadata characterizing each sample, as well as the samples that were selected for the different analyses (16S rDNA sequencing, *gyrB* sequencing, volatilome and sensorial profile).

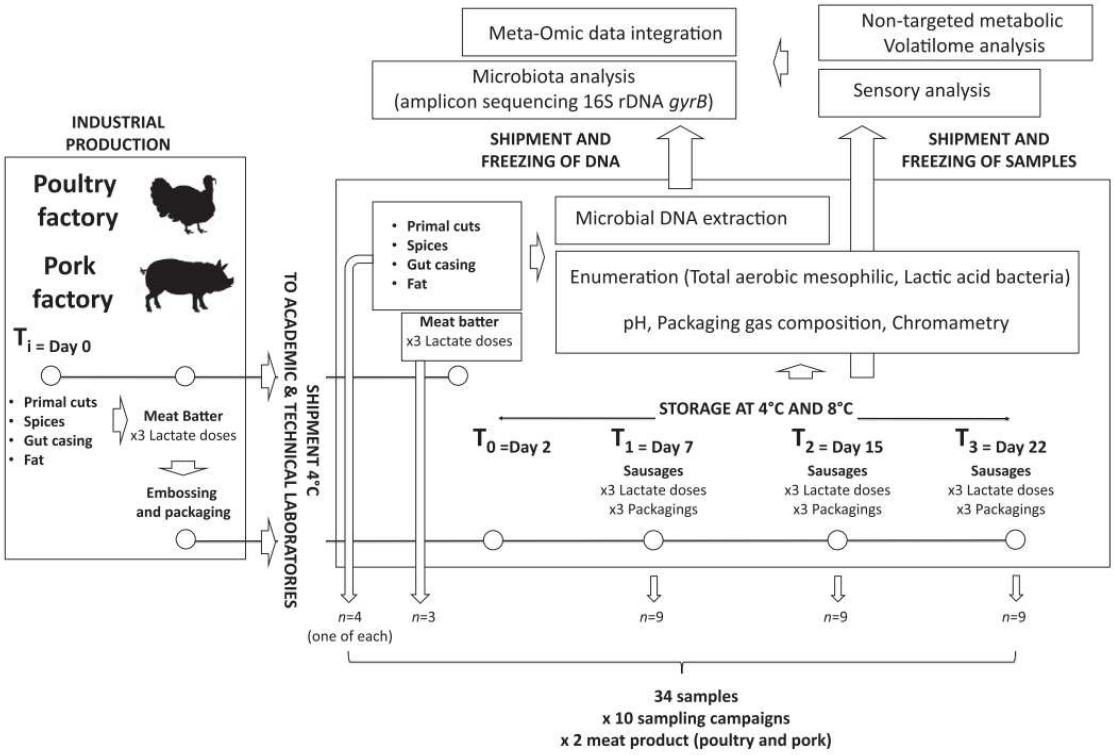


Figure II. 1 Large-scale strategy for the analysis of meat sausage samples and production of the dataset.

Table II. 2 List of supplementary tables making up the dataset. Tables available as spreadsheets at https://doi.org/10.15454/UDQLGE.

Supplementary table	Title and description.
Table S1	Sample nomenclature and metadata associated with each sample.
Table S2	pH dynamics over time for the different meat products.
Table S3	Chromametric measures for the different meat products.
Table S4	Gas composition (%) of the packaging atmosphere over time for the different meat products
Table S5	Total mesophilic aerobic flora (log_{10} CFU.g^{-1}) over time for the different meat products
Table S6	Lactic acid bacteria (log_{10} CFU.g^{-1}) over time for the different meat products
Table S7	Non-targeted metabolic volatilome composition (reduced centred normalization of pic areas) over time for the different meat products
Table S8	Sensorial profiles over time for the different meat products

Table S9	Microbial diversity analysis based on 16S rDNA V3-V4 region amplicon sequencing including OTU abundance table, OTU taxonomic assignment table and samples metadata table usable for *phyloseq* R package analysis (McMurdie & Holmes, 2013).
Table S10	Microbial diversity analysis based on *gyrB* amplicon sequencing including OTU abundance table, OTU taxonomic assignment table and samples metadata table usable for *phyloseq* R package analysis (McMurdie & Holmes, 2013).

Experimental design, materials and methods

Experimental design and sampling

The project focused on the monitoring of two food matrices: pork sausages and poultry sausages. For pork sausages, two types of meat pieces were used: normal mid shoulder meat and defatted/boneless/derinded shoulder meat (also named shoulder 4D). For poultry sausage, the meat was from turkey. In both sausages, pork fat was added to a final content of 20% and 11% in pork and poultry sausages, respectively. The following additives were added in pork sausages: potassium lactate (1.13% w/w, corresponding to full normal dose); sodium acetate 0.27% (w/w); sodium ascorbate 0.06% (w/w). In poultry sausages the following additives were added: potassium lactate (2.0% w/w, corresponding to full normal dose). Furthermore, both sausages were battered with a spice mix as ingredient added to a concentration of ~2.5% and containing (sodium salt ~40%, dextrose ~10%, spices ~15%, aromas ~22%). Ten sampling campaigns were conducted during 6 months on the production chains of two sausage producers in order to get a sufficient number of independent biological replicates. For each campaign and each food matrix, identical sampling strategy was applied. Four types of samples corresponding to the ingredients constituting sausages were collected: primal cuts, gut casing, fat and spices.

Three meat batters were separately prepared with different doses of lactate (the normal dose routinely used by the industrials, half of this dose and without any lactate). The three meat batters were sampled before their embossing into the tubular gut casing. Pork sausages were packed immediately after embossing whereas poultry sausages were packed 2 days later. Sausages were separately packaged by five into trays under three different atmospheres (normal air; 50%CO2-50%N2; and 70%O2-30%N2), sealed with thin high barrier polyester-based film [PET/EVOH (Co-polymer of Ethylene and Vinyl alcohol)/PE (PolyEthylene)] and stored during the first 5 days at 4°C and then until the end of the incubation at 8°C. The physical properties of the packaging were as follows: oxygen transmission rate <5 cm3/m2 · 24 h−1 · bar−1, CO2 transmission rate <25 cm3/m2. During storage, sausages

were sampled at three different dates: day 7, day 15, and day 22 (which was considered as an abused storage time).

Trays were frozen at -20°C prior color, sensory, and VOC analyses. Other treatments or analyses were performed directly.

Physico-chemical analyses

For all samples pH measures were performed on three sausages per tray using FiveGo FG2 with the electrode LE427-S7 (Mettler toledo, United States) inserted in sausages. For pork sausages gas composition of each tray was assessed with CheckMate3 (Dansensor, France). The same procedure was applied for poultry sausages with a digital O2/CO2 analyzer (Oxybaby, WITT Gasetechnik GmbH & Co. KG, Germany). Visual color changes were evaluated in triplicates for each condition, each sampling time and each production batch using the Minolta CR400 ChromaMeter (Grosseron, Nantes, France) in CIE-Lab scale. The measurements determined chromatic coordinates of L* (brightness), a* (green-red balance) and b* (blue-yellow balance).

Bacterial collection

Ten to fifty grams of each food-product batch were mixed in a stomacher bag (Interscience BagPage, ref280 µm+400- 122.025) with 4 volumes (40 to 200 mL) of peptone water (Biokar BK018HA) supplemented with 1% V/V Tween 80 ((VWR Chemicals 28830.291). Mixes were treated for 3 min (pork) or 2 min (poultry) in a stomacher (Masticator. IUL). Then, 32 mL of the shreds were collected and centrifuged at 500 × g for 3 min at 4°C to spin down the food matrix fibers and debris. The still-turbid supernatant (~25 mL) was collected and centrifuged at 3,000 × g (pork) or 10,000 x g (poultry) for 5 min at 4°C to spin down the bacterial cells. The bacterial pellet thus obtained was washed in 1 mL of sterile ultrapure water and collected after centrifugation as above for 5 min at 4°C to serve directly for DNA extraction or for plating.

Plating

Bacterial counts were estimated from filtrates obtained after the stomaching step. Serial dilutions in peptone water were performed and plated on Plate Count Agar (PCA) (CM0325, Oxoid for pork, AEB520709, Biomerieux for poultry) and on de Man, Rogosa, and Sharpe (MRS) agar (CM0361B; Oxoid for pork and AEB140652 for poultry) and incubated for 48 h at 30°C to estimate the total aerobic mesophilic population and the mesophilic lactic acid bacteria population size in CFU g−1 of meat, respectively.

DNA extraction, amplification and sequencing

Total DNA was extracted from bacterial pellets obtained after stomaching and a centrifugation steps using DNeasy PowerFood Microbial Kit (Mobio Laboratories Inc.

Carlsbad) according to the manufacturer's instructions and as described in Poirier et al. (2018). DNA extracts were used for the amplification of the bacterial hypervariable region V3–V4 of the 16S rRNA gene with the primers V3F (5'-ACGGRAGGCWGCAGT-3') and V4R (5'-TACCAGGGTATCTAATCCT-3'). In parallel, the degenerated primers F64 (5'-MGNCCNGSNATGTAYATHGG-3') and R353 (5'-CNCCRTGNARDCCDCCNGA-3') were used to amplify a ~280-bp region of gyrB gene as described in Poirier et al. (2018). Sequencing was performed by GENOSCREEN (Lille, France) on Illumina Miseq sequencer using the MiSeq Reagent Kit v3 (2x250 bp paired-end reads).

Sequence read processing, OTU clustering and taxonomic assignments.

Paired-end sequences were merged and trimmed as described previously (Poirier et al., 2018). Data were subsequently imported into the FROGS (Find Rapidly OTUs with Galaxy Solution) pipeline (Escudié et al., 2018) to be cleaned, filtered, clustered into Operational Taxonomic units and taxonomically assigned using the Silva 128 SSU database (Quast et al., 2013) and a home-made gyrB database (Poirier et al., 2018).

Sensory descriptive analysis

Samples of poultry and pork sausages, previously stored at -20°C, were one-night defrost in a cold room. Just before analysis, about 50 g of sample were transferred into a 250 mL opaque glass vial and sealed with a glass stopper. A sensory panel of experts in profiling techniques (n = 15; at least 5 previous experiences on food sensory analysis with profiling techniques) were trained during 8 months (minimum 15 h) on altered pork and poultry sausages. During training, they developed a consensus vocabulary in order to separate important attributes describing altered sausages off-odor compared to non-altered ones. Same attributes were chosen for pork and poultry sausages. Quantitative descriptive analysis (QDA) (Stone et al., 2008) was performed using those seven olfactory attributes. The different attributes and their respective descriptors used for the evaluation of the samples were global alteration odor, rancid, eggy/sulfurous, ethereal/fermented fruit, fermented/old dry sausage, old cheese, sour/pungent. The QDA was performed in ten sessions. Each panellist received randomly 12 coded samples in a session. Samples were presented monadically according to a balanced design in vials containing sausage for sniffing. Sensory evaluation was carried out at room temperature (25 ± 2 °C) in isolated booths in a sensory lab. Each panellist rated the global alteration odour intensity and the 6 odour attributes intensities of each sample on a 10 cm unstructured line scale (from « absent » to « very intense ») with sensory evaluation software (Fizz Biosystems, France).

Volatile organic compound (VOC) analysis

Samples of poultry and pork sausages, previously stored at -20°C, were cut in small pieces in a cold room to minimize the volatilization of VOC. Around 3-4 g of sample were

transferred into a 20 mL headspace vial and sealed with a screwcap with silicone rubber septum. The vial was weighted before and after sampling to determine the exact weight of sausage. Analyses were carried out in triplicate. VOC were determined by HS–GC–MS. All analyses were performed on a Varian 450 gas chromatograph (Varian, Palo Alto, CA, USA) coupled to a Varian 225-IT mass spectrometer (Varian), equipped with a CTC Combi PAL (CTC Analytics AG, Zwingen, Switzerland). Samples were equilibrated by agitation at 60°C for 20 min prior to injection and 1 mL was drawled from the headspace to inject in the GC. The HS-GC–MS conditions were as follows: capillary column: DB-624 UI (30m x 0.25 mm I.D x 1.4 mm film thickness) (Agilent Technologies); Carrier gas: Helium with a flow rate of 1.4 mL.min-1; Injection port mode: splitless; Needle temperature: 60°C; Injection temperature: 220°C. The oven temperature was programmed from an initial temperature of 40°C (7 min holding), rising to 50°C at 4°C/min (1 min holding), to 70°C at 4°C/min (1 min holding), to 120°C at 3°C/min (2 min holding) and to 245°C at 30°C/min (4 min holding). Transfer line temperature: 250°C. The temperatures of the manifold and the ion trap were kept constant at 150°C and 40°C respectively. Results were obtained in scan mode at four scans/s in the mass range (m/z) of 35–350 atomic mass units. VOC were identified by comparison of GC retention times and mass spectra with those of the standard compounds. Peak area (in UA) was used as quantitative data to monitor the relative changes of VOC over storage, potassium lactate concentration and atmosphere packaging. Data were initially subjected to pre-processing using the standard normal variate transformation to facilitate comparison of the peaks with different magnitudes.

Acknowledgments

The authors express their gratitude to the INRAE MIGALE bioinformatics facility (MIGALE, INRAE, 2020. Migale bioinformatics Facility, doi: 10.15454/1.5572390655343293E12) for providing computational resources and data storage.

Competing interests

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships which have, or could be perceived to have, influenced the work reported in this article. This work was supported by the ANR RedLosses Project, Grant ANR-16-CE21-0006, operated by the French Agence Nationale de la Recherche. SP and NDML were granted for postdoctoral and PhD study respectively through this agency. The funding body did not play any role neither in the design of the study nor in collection, analysis, and interpretation of data.

Chapitre III – Effets du lactate et de l'atmosphère protectrice

Préambule

Ce chapitre de thèse porte sur l'étude de l'influence de la formulation en lactate, du conditionnement sous atmosphère protectrice et du temps de stockage sur plusieurs réponses simples (sensorielles, physicochimiques et microbiologiques) associées à l'altération mesurées sur deux types de saucisses (volaille et porc). Pour ce faire, pour chaque réponse étudiée, un modèle linéaire à effet-mixte a été utilisé afin d'identifier l'influence des facteurs « temps », « lactate » et « conditionnement » considérés comme des effets fixes tout en prenant en compte la variabilité biologique entre les lots de production comme effet aléatoire. Cette analyse visait également à comparer les effets de ces deux stratégies de préservation sur les deux types de saucisses, ainsi que d'identifier des relations potentielles entre les réponses simples étudiées.

Les méthodologies pour l'analyse des données dans cette première phase d'analyse exploratoire ont été développées premièrement sur les saucisses de volaille et appliquées ensuite sur le porc de manière indépendante par nos collaborateurs du projet. Les résultats obtenus sur les deux matrices présentés dans ce chapitre ont fait l'objet d'une communication orale à la 11$^{\text{ième}}$ Conférences internationale de la modélisation prédictive dans les aliments* et d'une valorisation via un article de recherche (publié dans la journal « Food Research International »). L'article est présenté dans la partie suivante.

* Luong, N.-D.M., Jeuge S., Coroller, L., Feurer, C., Desmonts, M.-H., Moriceau, N., Anthoine, V., Gavignet, S., Rapin, A., Robieu, E., Zagorec, M., Membré, J.-M., Guillou, S. and the REDLOSSES Consortium. Spoilage indicators in fresh pork or poultry sausages: effects of modified atmosphere packaging and potassium lactate. 11th International Conference on Predictive Modelling in Food, Bragança, Portugal, 2019.

Article publié dans *Food Research International*

Spoilage of fresh turkey and pork sausages: Influence of potassium lactate and modified atmosphere packaging

Ngoc-Du Martin Luong[1], Sabine Jeuge[2a], Louis Coroller[3], Carole Feurer[2b], Marie-Hélène Desmonts[4], Nicolas Moriceau[1], Valérie Anthoine[1], Sophie Gavignet[4], Adeline Rapin[4], Bastien Frémaux[2a], Emeline Robieu[2a], Monique Zagorec[1], Jeanne-Marie Membré[1], Sandrine Guillou[1]

1. INRAE, Oniris, Secalim, route de Gachet, CS 40706, F-44307 Nantes, France

2. IFIP, (a) Paris, France, (b) Le Rheu, France

3. Univ de Brest, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne, UMT Alter'ix, F-29334 Quimper, France.

4. Aerial, Illkirch, France

Corresponding author

Sandrine Guillou : sandrine.guillou@inrae.fr

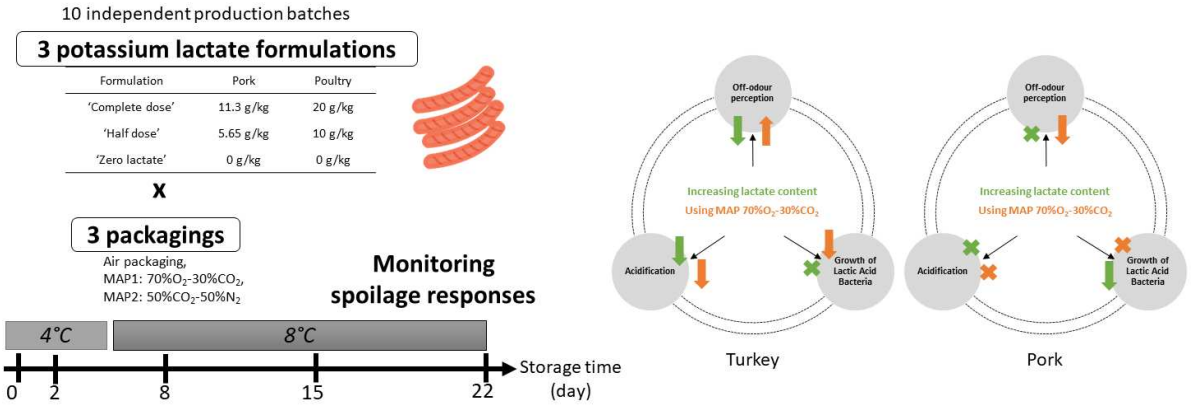
https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109501

Abstract

Fresh poultry and pork meat products represent highly perishable products which are susceptible to spoil within a few days after production. Lactate addition and modified atmosphere packaging are common preservation strategies used to overcome spoilage. This study aimed to identify the effects of these strategies and their possible interactions on spoilage indicators simultaneously on fresh pork and turkey sausages. Ten batches of raw meat (turkey or pork) sausages were industrially produced with different lactate concentrations (0, 1 or 2% w/w in turkey and 0, 0.57 and 1.13% w/w in pork), packed under different gas mixtures (air, MAP1: 70% O_2 – 30% CO_2 and MAP2: 50% CO_2 - 50% N_2) and chill stored during 22 days. Spoilage responses including enumeration of total aerobic mesophilic and lactic acid bacteria, measurement of pH and colour, evaluation of visual defects and off-odour, were monitored. Effects of lactate and modified atmosphere packaging (MAP) as well as random effect of the batch variability were studied using a mixed effect model. Despite initial batch variability, significant effects of lactate and gas packaging were observed but in a different way in turkey and pork. Our results suggest that for fresh turkey sausages, the gas mixture enriched in oxygen enhanced off-odour perception and sausage discolouration from red to dark grey / brown colour. Unlike turkey sausages, in pork sausages, lactate did not significantly influence the monitored spoilage responses, whereas MAP (70% O_2-30% CO_2) reduced the off-odour perception. The developed model could be

useful to estimate the effect of preservation strategies on spoilage occurrence while considering industrial batch variability.

Graphical abstract



Keywords

Meat spoilage, Poultry sausages, Lactic Acid Bacteria, Off-odour, Off-colour, Acidification, Mixed-effect model, Biological Variability, Batch Variability

Highlights

- High oxygen atmosphere increases off-odour and discolouration of turkey sausages.
- Unlike turkey, lactate barely affects spoilage-associated responses in pork sausages.
- Spoilage dynamics or pork and turkey sausages vary greatly between production batches

Abbreviations

- CFU Colony Forming Unit
- LAB Lactic Acid Bacteria
- MAP Modified Atmosphere Packaging
- REML Restricted Maximum Likelihood
- TAMB Total aerobic mesophilic bacteria

1 Introduction

Fresh meat products represent highly perishable products since spoilage may occur within a few days following production. Spoilage is associated with food rejection and food losses because products become unacceptable for the consumer (Koutsoumanis et al., 2008). Spoilage of meat products is mainly due to microbial growth and chemical defects such as lipid and protein oxidation. It results in sensory alterations with change of colour or texture

and development of off-odours, slime, *etc.* (Erkmen & Bozoglu, 2016; Pellissery et al., 2019). Meat products may be contaminated by microorganisms, especially bacteria, transmitted from intestinal track or skin of the animal as well as from the factory environment (water, air, soil), surfaces (storage bins, cutting knives, equipment) and human manipulations (clothing and hands) following slaughtering processes (Chaillou et al., 2015; Hultman et al., 2015) and also final operations such as slicing, mixing and grinding. Food manufacturers have to ensure food safety and quality by controlling microbial contamination through good hygiene practices and by limiting microbial growth. Deterioration of the meat quality associated with microbial growth (Borch et al., 1996; Cerveny et al., 2009; Gram et al., 2002) can vary greatly depending on the characteristics of the products, such as the meat matrices or the type of product (red/white or raw/processed meat) (Dave & Ghaly, 2011). Factors influencing microbial growth include intrinsic factors (natural composition and added ingredients, pH, redox potential and water activity), as well as extrinsic factors (storage temperature and atmosphere of the packaging) (Iulietto et al., 2015; Pellissery et al., 2019). The influence of intrinsic factors (e.g. meat composition, ingredients, pH and a_w) as well as extrinsic factors (e.g. temperature, atmosphere) on meat spoilage has been recently reviewed (Pellissery et al., 2019). Spoilage generally results from the contamination and growth of several bacterial groups, their possible interactions, and their metabolic activities. Several strategies to preserve fresh products in order to overcome meat deterioration have been proposed (Abdel-Aziz et al., 2016; Chouliara et al., 2007; Hasapidou & Savvaidis, 2011). They generally include the addition of ingredients like food preservatives, essential oils (Abdel-Aziz et al., 2016; Hultman et al., 2015; Incoronato AL, 2015; Pellissery et al., 2019), storage under chilled conditions and under modified atmosphere packaging (MAP) (Farber, 1991; Genigeorgis, 1985). Nevertheless, the influence of organic salts as lactate for example, on spoilage occurrence has been poorly documented, with studies mainly focused on their effect on pathogenic species or yeasts (Houtsma et al., 1993; Linton et al., 2014; Mataragas et al., 2010). Moreover, to our knowledge, the influence of these hurdle strategies on spoilage occurrence, has not been studied simultaneously on fresh processed sausage products from different types of meat.

The aim of this work was to study the influence of both potassium lactate concentration and atmosphere packaging on several common spoilage-associated responses in two types of fresh sausages while considering process variability. Fresh turkey or pork sausages were produced on an industrial scale in two distinct French food companies following specific instructions regarding product formulation. The process variability was considered by monitoring ten batches for each sausage type, produced over a 6-month period. Including this variability in analyses of the effects of the preservations strategies on spoilage was possible with the use of an appropriate statistical treatment assuming a random effect of production batches.

2 Material and methods

2.1 Data acquisition

The data and all the experimental protocols included in this study come from a large collaborative project between academic partners, technical centres, and two industrial producers, which have been deposited and published in a data paper (Poirier et al., 2020).

2.1.1 Sausage production and packaging

In France, raw sausages are made either with pork or poultry meat which are also the two meat types the most consumed. Since the industrial process of these two meat products were similar, we found it interesting to compare the influence of common preservation strategies on these two products. Turkey and pork sausages were produced by two French food companies. Each kind of sausages was provided from ten independent productions (batches) from July to December 2017. We considered that the variability of the meat quality which may be especially attributed to the animal diet, was encompassed in the global variability of the products which we decided to tackle by analysing ten different sausage batches. Each production was made with three formulations of potassium lactate. These formulations were respectively 2% (w/w), 1% (w/w) and 0% (w/w) in turkey sausages [turkey meat 75% (w/w), pork fat 15% (w/w), water, mix of salt and spices 10% (w/w)), and 1.13% (w/w), 0.57% (w/w) and 0% (w/w) in pork sausages (pork shoulder 80% (w/w), pork cutting fat 20% (w/w), sodium acetate 0.27%, sodium ascorbate 0.006%, spices]. The formulations of 2% (w/w) in turkey and 1.13% (w/w) in pork sausages were equivalent to the ones generally used by these food companies. For simplification purposes here, for each meat matrix, the three formulations were denoted 'Current dose of lactate', 'Half-dose of lactate' and 'Without lactate', respectively.

Sausages were afterwards packed by five (or six) in PET (polyethylene terephthalate) trays one day and two days respectively after production of turkey (or pork). Sausages were conditioned under three modified atmosphere packaging (MAP) and sealed with thin high barrier polyester-based film (PET/EVOH (Co-polymer of Ethylene and Vinyl alcohol)/PE (PolyEthylene). The physical properties of the packaging film were as follows: oxygen transmission rate < 5 $cm^3/m^2 \cdot 24$ $h^{-1} \cdot bar^{-1}$, CO_2 transmission rate < 25 $cm^3/m^2 \cdot 24$ $h^{-1} \cdot bar^{-1}$. The initial gas compositions in the used MAPs were 'Air packaging': 21% O_2-78% N_2-1% of other gases including CO_2; 'MAP1': 70% O_2-30% CO_2 and 'MAP2': 50% CO_2-50% N_2. The two latter ones are gas compositions commonly used by the two supply French companies. Nine different combined conditions of lactate contents and MAP were then considered. For each condition, at least three trays were prepared to ensure a sufficient quantity of sausages for the measurement of the various responses. For each matrix and each

sausage production batch, 90 trays of sausages were packed in total and used for sampling (Figure III. 1)

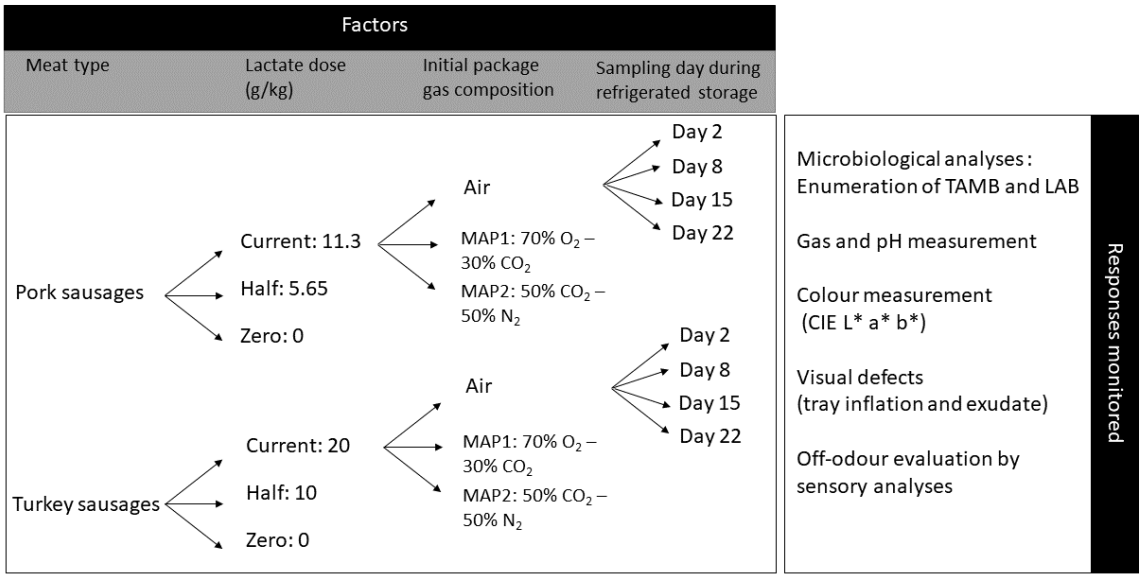


Figure III. 1 Experimental design. For each sausage type, from day 8, 3 trays were necessary to monitor all responses per lactate dose, gas atmosphere and sampling time (per sampling time: 3 lactate doses x 3 gas compositions x 3 sampling days x 3 trays = 81 trays). For day 2, gas composition was not considered since trays had just been conditioned (3 lactate doses x 1 gas composition x 3 trays = 9 trays).

After packaging, sausage trays were stored at 4°C until the 5th day after the production, then at 8°C until the 22nd day. This storage protocol was inspired by the French Norm NF V01-003 used to establish the shelf-life of chilled perishable and highly perishable food (AFNOR, 2018). It consists in storing samples at 4°C for one third of the shelf-life and then, at 8°C during the remaining two third of the storage duration. The use-by-date (UBD) established by the producers for the sausages containing the normal dose of lactate and conditioned under modified atmosphere, was 15 days for both types of meat. Therefore, sausages were first stored at 4°C during 5 days and then placed at 8°C during the remaining storage duration. To be able to observe spoilage occurrence, the storage duration was extended to one UBD and half, *i.e.* 22 days. Several microbiological and sensory responses were measured at different sampling time points, *i.e.* 2, 8, 15 and 22 days after the production. Despite the differences in the packing date between the two types of sausages, it was chosen to monitor the different responses at the same times to enable comparisons. The first analyses conducted at day 2 after production for both matrices were considered as the initial conditions of the experiments.

2.1.2 Microbiological analyses

Analyses were independently performed on pork and turkey with harmonized protocols in two separate laboratories, which explained the difference in equipment and media used (Poirier et al., 2020). Around 50 g of sausages (corresponding to one fresh sausage) were placed into a stomacher bag with a filter (Bagpage, Interscience, France). It was then homogenised with 200 ml of sterile peptone water (Biorad, France), containing 1% Tween 80 (Sigma, Ilkirch) emulsifier in a masticator blender (Bagmixer, Interscience, France) for 120 seconds at room temperature. For each sample, appropriate serial decimal dilutions were prepared in buffered peptone water. Total aerobic mesophilic bacteria (TAMB) were enumerated in Plate Count Agar medium (PCA, Biomérieux or Biorad, France) incubated at 30°C for 48h. Lactic Acid Bacteria (LAB) were determined on the Man Rogosa Sharpe Agar medium (Biokar or Biomérieux, France) incubated at 30°C for 48h. After incubation, plates with 30–300 colonies were counted. Microbiological data were transformed into decimal logarithms of the number of colonies forming units per gram of sausage sample (log CFU/g).

2.1.3 pH measurement

pH was measured using a pH meter (InLab Solids Pro or FiveGo, Mettler Toledo) by direct insertion of the electrode into sausage samples. Three measurements were carried out on three different sausages from the same tray (corresponding to one condition of packaging and lactate) as previously described in Lerasle et al. (2014).

2.1.4 Spoilage characterisation

i. Visual defects

Two visual defects were evaluated at each sampling time point, *i.e.* packaging swelling and presence of exudate, as already performed by Fougy et al. (2016). These evaluations were always performed on sealed trays (before opening). Packaging swelling was determined visually or by pressing softly on the sealing film to check its resistance. Exudate was evaluated by tilting the tray in order to check if there was a liquid accumulated at the bottom of the tray. Qualitative assessment of these visual defects was characterized by 'presence' or 'absence'.

ii. Perception of off-odour

Sensory analyses were performed by 15 trained panellists in order to evaluate off-odours, according to standard procedures (NF ISO, 2010, 2017). The panel was trained during an 8-month period before performing analyses. The objective of the training sessions was the acquisition of the ability to distinguish spoiled from unspoiled products by olfactory

perception through triangular tests. Normative documents were used as support of these training sessions (ISO, 1994; NF EN ISO, 2007, 2016; NF ISO, 2006).

Ten sessions were then performed to evaluate all pork and turkey products. Two batches (pork or turkey) were analysed during the same session. Between 10 to 15 panellists participated to each session. The samples were presented to the panellists according to a predefined, balanced tasting plan, different for each panellist and for each session. One tasting plan per meat matrix was created for all the sessions, which represented in total 20 equilibrated latine square designs, automatically generated (Fizz software, Version 2.51, Biosystèmes, Couternon, France).

Evaluations were done on trays frozen at -20°C, as commonly performed in sensorial analysis (Mace et al., 2014). Freezing packed samples at different sampling time points was necessary to keep all off-odour characteristics during the 6-month sampling period and transport, before sensorial analysis. Freezing different samples also enabled panellists to perform sequential monadic evaluation, *i.e.* randomly and sequentially evaluate different types of products during the same session (different monitored time points, different lactate of MAP conditions). Two hours before each session, samples were thawed. Then, samples of 20 g of sausage were prepared and presented to the panellist in a 250-mL Erlenmeyer flask in opaque glass and with ground glass stopper, codified with three random numbers. For each evaluation, a control sample (fresh sausage containing lactate frozen immediately after production), was presented to the panellists as the reference, to avoid random difference between different sessions. This control sample was present in two copies to be able to assess the panel effect. All panellists evaluated the same samples against a control sample. By comparing each sample to the control one, each panellist denoted the odour as 'spoiled' or 'not spoiled' after sniffing. The off-odour score for each sample (in continuous scale between 0 and 1) was represented by the proportion of the panel denoting the sample as 'spoiled'. The off-odour of sausages formulated with the "Half-dose of lactate" was not assessed.

iii. Colour measurement

Colour profile of sausages was measured using the Minolta CR400 ChromaMeter (Grosseron, Nantes, France) in CIE-Lab scale (CIE, 1978). The measurements determined chromatic coordinates of L^* (brightness), a^* (green-red balance) and b^* (blue-yellow balance). Measurements were made in three replicates for each condition, each sampling time and each production batch. The colour of sausages formulated with the "Half-dose of lactate" was not monitored.

2.2 Statistical analysis

Seven quantitative responses were considered in this study, *i.e.* enumeration of TAMB (in log CFU/g), enumeration of LAB (in log CFU/g), pH value, measurement of the 'brightness' (CIE L^* value), 'green-red' (CIE a^* value), 'blue-yellow' (CIE b^* value) balances and the off-odour score (in continuous scale between 0 and 1). Analyses were carried out independently for turkey and pork sausages. Correlations between responses were evaluated using non-parametric Spearman's rank correlation test. Linear mixed effects analyses were performed to study the influence of the storage time, packaging and lactate formulation on each considered spoilage response. For each meat matrix, production batches were associated with random effects whereas storage time, packaging and lactate formulation were considered as fixed effects. Including three fixed factors and the random effect of batches required an adapted procedure for building a mixed effect model enabling to describe all the above effects. For each meat matrix, considering firstly a reference model denoted M_0 which was written as described below:

$$(M_0): Response \sim Time + Lactate + Packaging + (1|Batch) + \epsilon, \qquad (Eq.III.1)$$

where $(1|Batch)$ represents the random effect of production batches on the intercept coefficient. Including this random effect in the model enabled to consider the non-independence of the data since sausage samples with different lactate contents and packed from the same product batch were not independent. The model adjustment assumptions were checked by diagnosing residual plots to check and remove data presenting any deviations from homoscedasticity or normality. Data were considered as outliers following residual diagnosing over all experimental conditions and all sampling time points. Based on these criteria, one or two batches considered as outlier data in turkey and pork sausages respectively, were removed from mixed-effects analyses. Fitting mixed effect models to data was performed by maximising the likelihood of the data (Restricted Maximum Likelihood approach, REML) using the *R* package *lme4* (Bates et al., 2014). The p-value corresponding to each fixed effect was obtained by likelihood ratio tests of M_0 against the model without the effect in question. The p-value corresponding to each possible interaction between main factors (Storage time x Packaging, Storage time x Lactate formulation, Packaging x Lactate formulation) was obtained by likelihood ratios tests of M_0 against the model including the interaction in question. In order to reduce the number of estimated parameters in the model with interaction, the three-factor interaction (Storage time x Gas Composition x Lactate) was not included. The significant main factors and interactions presenting a p-value < 0.05 were retained in the final model for describing significant effects. The estimates of each retained effect were represented by the coefficient corresponding of each modality of the effect as shown in Table 2 in the next section. The R script for the analysis is provided in Supplementary data.

Two qualitative responses were also considered in this study and corresponded to two visual defects, *i.e.* package swelling and presence of exudate. Each qualitative response took value 0 or 1 corresponding to the 'absence' or 'presence' of each defect and was described by a mixed-effects logistic (generalised linear) model. The *logit* function was used for transforming these qualitative responses into the occurrence probability of the considered responses. Mixed effects generalised linear analyses were performed in the same way as described above for quantitative responses to describe the relationships between the transformed response and the three fixed factors in question.

3 Results and discussion

3.1 Evolution and correlations between spoilage responses during chilled storage

3.1.1 Evolution of different spoilage responses

Despite an important inter-batch variability in both matrices and in all conditions, off-odour scores increased globally over time as shown in Table III. 1, generally reaching more than 0.8 no matter the meat matrix. It is noteworthy that the off-odour increased earlier in turkey than in pork, with a difference between turkey and pork sausages of 0.4 approximately on the 8^{th} day after the production, especially in absence of lactate and under 'Air packaging' or 'MAP1 (70% O_2-30% CO_2)'. Then off-odour scores of turkey and pork sausages seemed to converge, reaching on the 15^{th} day, mean values between 0.6- and 0.77, and more than 0.8 at the end of the storage. The evolution of all the monitored spoilage responses was plotted and provided in Figure III. 2 Figure III. 4 and Supplementary data (Fig. III-S. 1Fig. III-S. 6).

Table III. 1 Evolution of average inter-batch physico-chemical and microbiological responses recorded during the chilled storage of pork and poultry sausages. Each value is the mean of 10 (resp. 11) batches of poultry (resp. pork) with standard deviation. ND: Not determined.

Time (days)		Poultry									Pork								
		Current dose			1/2 dose			Without lactate			Current dose			1/2 dose			Without lactate		
		Air	MAP1	MAP2	Air	MAP1	MAP2	Air	MAP1	MAP2	Air	MAP1	MAP2	Air	MAP1	MAP2	Air	MAP1	MAP2
L*	2		44.32 ± 2.3			ND			44. 32 ± 2.3			42.07 ± 1.7			ND			42.07 ± 1.7	
	8	46.19 ± 1.3	46.71 ± 2.2	46.97 ± 2.0		ND		47.94 ± 2.1	48.72 ± 1.5	47.02 ± 1.0	42.3 ± 2.0	43.0 ± 1.5	43.3 ± 1.9		ND		44.4 ± 2.6	44.7 ± 2.2	43.8 ± 2.6
	15	47.76 ± 2.0	48.17 ± 1.5	47.70 ± 1.8		ND		48.44 ± 1.4	49.35 ± 1.9	49.49 ± 1.8	42.6 ± 1.9	44.7 ± 2.6	44.7 ± 2.7		ND		44.6 ± 2.3	45.1 ± 2.8	43.2 ± 2.6
	22	47.91 ± 1.5	47.64 ± 0.98	47.77 ± 1.9		ND		49.69 ± 1.5	48.33 ± 1.6	48.81 ± 1.3	43.0 ± 1.3	45.3 ± 2.3	44.4 ± 1.6		ND		44.3 ± 2.4	46.1 ± 1.8	43.4 ± 1.8
a*	2		13.55 ± 1.2			ND			13.55 ± 1.2			16.8 ± 1.3			ND			16.8 ± 1.3	
	8	12.81 ± 0.73	10.75 ± 1.2	12.56 ± 1.8		ND		12.77 ± 1.4	10.59 ± 1.1	12.99 ± 0.89	16.8 ± 1.6	15.6 ± 1 .1	18.9 ± 2.2		ND		15.6 ± 1.4	16.1 ± 1.7	19.2 ± 1.4
	15	10.98 ± 0.8	8.88 ± 1.5	10.61 ± 0.6		ND		11.51 ± 1.4	8.91 ± 2.0	11.49 ± 0.8	16.7 ± .4	13.3 ± 1.4	17.2 ± 2.5		ND		15.6 ± 1.9	13.4 ± 1.4	17.3 ±1.9
	22	10.21 ± 1.2	8.79 ± 1.8	9.56 ± 1.1		ND		10.00 ± 1.1	9.51 ± 1.6	9.80 ± 1.4	15.7 ± 1.4	13.6 ± 1.4	15.6 ± 1.6		ND		15.2 ± 1.2	12.5 ± 1.1	16.0 ± 1.0
b*	2		8.87 ± 1.3			ND			8.87 ± 1.3			11.1 ± 1.3			ND			11.1 ± 1.3	
	8	9.53 ± 0.94	9.06 ± 1.2	9.09 ± 1.0		ND		10.35 ± 0.85	10.65 ± 1.1	9.78 ± 1.0	10.8 ± 1.6	10.9 ± 1.2	12.0 ± 1.7		ND		11.4 ± 2.1	11.2 ± 1.7	12.7 ± 1.2
	15	9.91 ± 1.1	10.47 ± 1.2	9.24 ± 1.1		ND		10.08 ± 0.8	12.03 ± 2.1	10.47 ± 1.1	10.9 ± 1.9	9.50 ± 1.6	11.2 ± 1.4		ND		11.8 ± 1.7	10.0 ± 1.4	11.1 ± 1.7
	22	10.17 ± 0.9	11.45 ± 0.97	9.26 ± 0.71		ND		10.67 ± 1.4	12.01 ± 1.4	10.72 ± 1.4	10.4 ± 1.8	9.91 ± 1.6	10.6 ± 2.1		ND		10.8 ± 1.7	9.42 ± 0.73	10.7 ± 1.5
TAMB	2		5.5 ± 0.7			5.6 ± 0.6			5.9 ± 0.5			4.5 ± 0.7			4.6 ± 0.7			4.4 ± 0.7	
	8	8.6 ± 0.2	8.5 ± 0.4	8.2 ± 0.7	8.6 ± 0.4	8.7 ± 0.3	8.1 ± 0.6	8.8 ± 0.3	8.9 ± 0.3	8.4 ± 0.4	6.3 ± 0.8	6.0 ± 0.7	5.9 ± 1.0	6.6 ± 0.8	6.5 ± 0.8	6.2 ± 1.0	6.4 ± 0.8	6.3 ± 0.7	5.9 ± 0.7
	15	9.1 ± 0.5	9.2 ± 0.4	8.9 ± 0.5	9.1 ± 0.5	9.1 ± 0.3	9.0 ± 0.4	9.1 ± 0.4	9.1 ± 0.4	9.0 ± 0.5	8.2 ± 0.3	8.1 ± 0.4	8.1 ± 0.4	8.4 ± 0.3	8.3 ± 0.3	8.2 ± 0.5	8.3 ± 0.3	8.3 ± 0.4	8.3 ± 0.3
	22	8.8 ± 0.3	8.9 ± 0.3	8.9 ± 0.4	8.9 ± 0.3	8.9 ± 0.3	9.0 ± 0.5	8.7 ± 0.3	8.8 ± 0.2	9.0 ± 0.7	8.4 ± 0.4	8.2 ± 0.4	8.4 ± 0.4	8.5 ± 0.3	8.4 ± 0.2	8.5 ± 0.3	8.5 ± 0.3	8.4 ± 0.3	8.6 ± 0.3
LAB	2		3.5 ± 0.7			3.4 ± 0.5			3.5 ± 0.6			2.3 ± 0.4			2.7 ± 0.5			2.4 ± 0.3	
	8	7.2 ± 0.8	6.9 ± 0.9	7.3 ± 0.8	7.2 ± 0.6	6.9 ± 0.8	7.6 ± 0.6	7.2 ± 0.7	7.0 ± 0.7	7.5 ± 0.8	5.8 ± 1.0	5.7 ± 0.8	5.4 ± 1.0	6.2 ± 0.8	6.2 ± 0.8	5.9 ± 1.0	5.9 ± 0.6	6.0 ± 0.6	5.6 ± 0.8
	15	8.3 ± 0.6	8.1 ± 0.5	8.5 ± 0.4	8.2 ± 0.4	7.8 ± 0.6	8.5 ± 0.3	8.1 ± 0.5	7.8 ± 0.5	8.4 ± 0.3	8.1 ± 0.4	8.0 ± 0.4	7.9 ± 0.4	8.3 ± 0.3	8.1 ± 0.4	8.1 ± 0.5	8.2 ± 0.4	8.1 ± 0.4	8.2 ± 0.3
	22	8.2 ± 0.5	8.0 ± 0.6	8.4 ± 0.4	8.1 ± 0.5	8.0 ± 0.7	8.4 ± 0.4	7.9 ± 0.4	7.8 ± 0.5	8.5 ± 0.7	8.2 ± 0.4	8.0 ± 0.4	8.3 ± 0.4	8.4 ± 0.3	8.3 ± 0.2	8.5 ± 0.3	8.4 ± 0.3	8.4 ± 0.3	8.1 ± 0.9
Off-odour	2		0.18 ± 0.1			ND			0.24 ± 0.1			0.30 ± 0.14			ND			0.35 ± 0.13	
score	8	0.65 ± 0.1	0.62 ± 0.1	0.45 ± 0.1		ND		0.74 ± 0.1	0.66 ± 0.1	0.52 ± 0.2	0.33 ± 0.14	0.43 ± 0.22	0.41 ± 0.14		ND		0.35 ± 0.20	0.36 ± 0.14	0.49 ± 0.14
	15	0.79 ± 0.1	0.78 ± 0.1	0.69 ± 0.2		ND		0.75 ± 0.2	0.83 ± 0.1	0.80 ± 0.1	0.64 ± 0.11	0.68 ± 0.14	0.73 ± 0.25		ND		0.63 ± 0.11	0.64 ± 0.13	0.69 ± 0.16
	22	0.85 ± 0.1	0.79 ± 0.1	0.80 ± 0.1		ND		0.92 ± 0.1	0.84 ± 0.1	0.93 ± 0.1	0.84 ± 0.15	0.75 ± 0.11	0.87 ± 0.11		ND		0.84 ± 0.07	0.79 ± 0.08	0.90 ± 0.08

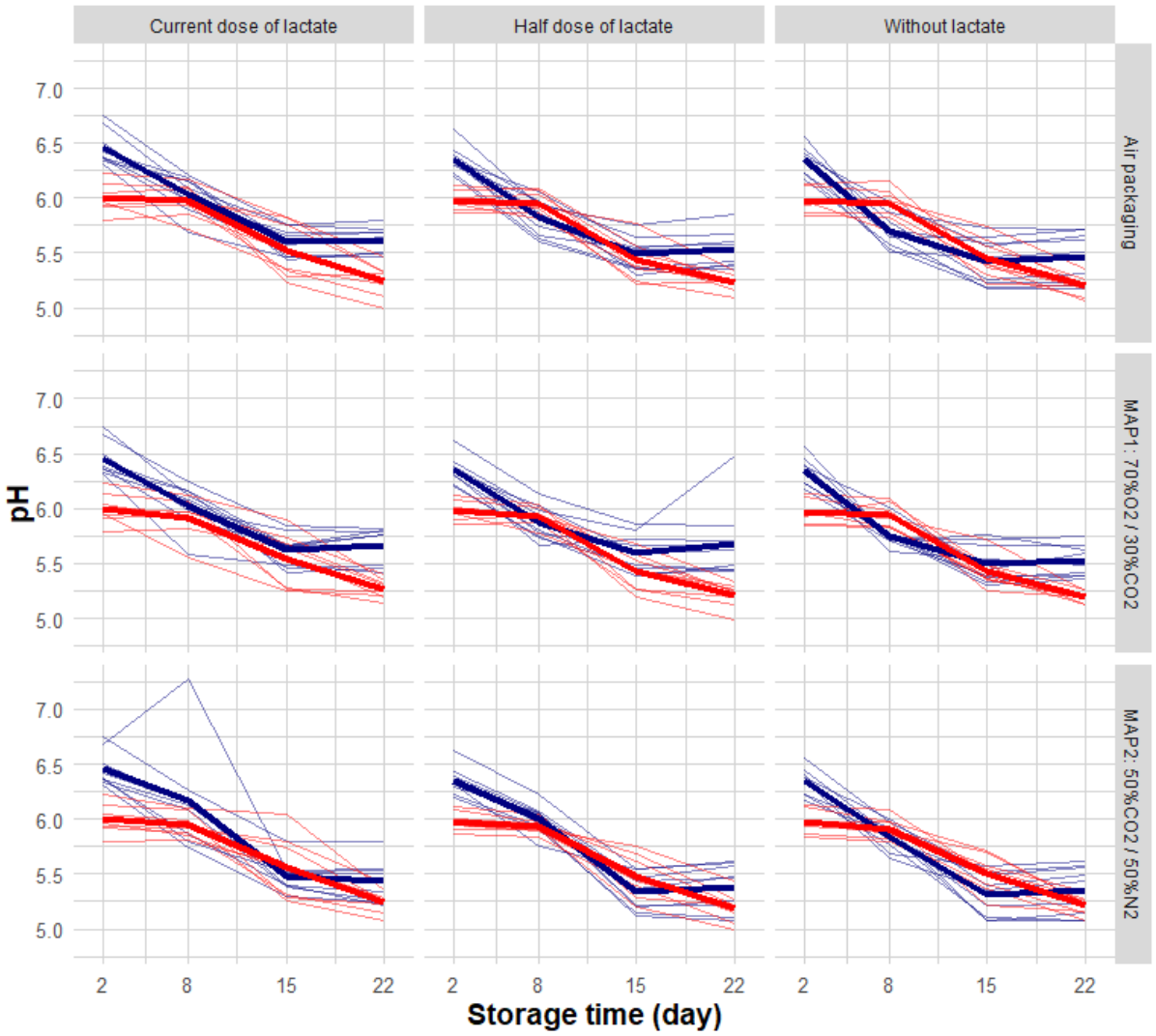


Figure III. 2 pH evolution as a function of experimental conditions (concentration of lactate and atmosphere packaging). For each condition, the blue (resp. red) curves correspond to the turkey (resp. pork) sausages. The different thin curves correspond to different batches. The thick curves correspond to the inter-batch average curve.

Meat colour is closely related to the proportion of the three forms of myoglobin (oxymyoglobin: bright-red, deoxymyoglobin: dark purplish-red, and metmyoglobin: brownish) (AMSA, 2012). Regarding colour characteristics, L^* values were shown to slightly increase in both meat matrices during storage for all conditions, from 44.32 to 48.36 and from 42.01 to 44.4, respectively in turkey and pork (Table 1). These values suggested then a "whitening" trend in pork and turkey sausages over time, whatever conditions. L^* variability has been shown by Lindahl et al. (2001) to be mostly explained by pigment content and fractions of metmyoglobin and oxymyoglobin. Since storage is assumed to favour myoglobin oxidation into metmyoglobin, L^* was expected to decrease. However, other phenomena such as protein denaturation or water exudation, both enhanced at low pH , may have resulted in this slight L^* increase (Alvarado et al., 2005). However, the amplitude

of this increase seemed to be higher in turkey (9%) than in pork (4%). In addition to the "whitening" effect, a decrease of the CIE a^* values from 13.55 to 9.64 and 16.75 to 14.77 respectively in turkey and pork matrices suggested a loss of the 'red shade' in sausages. Such discolouration has already been observed in other studies (Bouju-Albert et al., 2018; Martinez et al., 2005). The decrease of a^* was ascribed to oxidation and formation of metmyoglobin by Saucier et al. (2000) and Veberg et al. (2006). At last, the CIE b^* value increased from 8.87 to 10.71 over time in turkey sausages, contrarily to pork sausages with a slight decrease for from 11.05 to 10.30. The increase of b^* associated with enhanced yellowness under high oxygen atmosphere may be due to lipid oxidation in turkey sausages. Indeed, increased b^* values correlated with lipid oxidation have also been observed in turkey patties conditioned under similar gas atmosphere (Veberg et al., 2006). Globally, major alterations of the CIE L^*, a^*, b^* values were observed during the first 15 days of storage, corresponding to a discolouration from 'red' in the fresh sausages into 'less red/yellow/brown' in the spoiled ones. The average trend of these values suggested that the colour seemed to be stabilised between the 15th and the 22nd day after production.

Considering microbiological enumerations, at the beginning of storage (day 2), the enumeration of TAMB varied between batches and was 5.7 ± 0.6 log CFU/g and 4.5 ± 0.7 log CFU/g in average, in turkey and pork sausages, respectively (Table 1). In both matrices, the TAMB increased over time but earlier in turkey than in pork samples, reaching 8.5 ± 0.5 log CFU/g in average, on the 8th day of storage as opposed to 6.2 ± 0.8 log CFU/g in pork. However, on the 15th day of storage, the average count of TAMB reached the same level in both matrices at approximately 8.2-9 log CFU/g, at which stabilisation seemed to occur.

Similar trends were observed for the enumeration of LAB, with a faster increase in turkey than in pork, reaching 7.2 ± 0.8 log CFU/g at day 8, as opposed to 5.9 ± 0.8 log CFU/g in pork. Globally, the one-log higher population in turkey at the beginning of the storage, disappeared from day 15 at which stabilisation occurred at around 8 log CFU/g in both matrices. LAB seemed to be dominant in both meat matrices which is commonly observed, as also found by Benson et al. (2014) in fresh pork sausages.

Regarding pH, at the beginning of the storage, the average pH value of sausages was 6.40 ± 0.14 in turkey and 5.98 ± 0.10 in pork. Globally, acidification was observed over time in both matrices as shown in Figure III. 2. However, the pH value decreased earlier in turkey than in pork, since an important drop of 0.5 pH units was observed between the 2nd and 8th day, whatever the process conditions. In contrast, in pork samples, the pH did not change before the 8th day of storage. From this time point, the pH decreased and reached 5.5 approximately in both matrices on the 15th day, but continued dropping in pork to 5.2 at day-22, unlike turkey in which stabilisation occurred. Acidification is a common effect

observed during storage of meat products and is due to acid production from microbial metabolism. The pH in pork sausages was shown to follow a curve with three phases, *i.e.* lag, acidification and stabilisation similarly as observed by Deumier and Collignan (2003) in dry fermented chicken sausages or by Benson et al. (2014) in fresh pork sausages. A similar two-phase decrease of pH (without lag phase) was also observed in chicken frankfurters (Tovunac et al., 2011).

Not surprisingly, the storage time significantly affected all spoilage responses measured in this study, stressing the dynamical nature of spoilage (mixed-effect model analysis, Table III. 2). Moreover, the results suggested that pork and turkey sausages were altered differently, especially regarding the onset of important changes which occurred earlier in turkey than in pork sausages. In turkey sausages, the fairly initial higher pH and closer to neutrality and higher content in sulfur-containing amino-acids of turkey sausages may explain this faster spoilage. Simultaneous changes have been observed between acidification, discolouration, off-odour perception and evolution of microbiological indicators. This suggested then potential correlations between these indicators.

3.1.2 Correlation analysis between physico-chemical and microbiological indicators

For both matrices of turkey and pork sausages, significant correlations were observed between most of the studied indicators, except for the CIE b^* value which was only correlated with the CIE a^* value in pork sausages (Figure III. 3). Strong correlations were observed between the off-odour score, pH and the enumeration of TAMB and LAB in both matrices, with variations in the same directions (positive or negative correlation) in both matrices (absolute correlation between 0.62 and 0.95; p-value < 0.05). Hence, these results suggested that acidification was strongly positively associated with the off-odour perception and the bacterial count, whatever the meat matrix. In particular, in pork sausages, the colour indicators were poorly correlated with the other spoilage responses. Few studies have performed such correlation analysis. For instance, Fougy et al. (2016) used this approach to link the nature of spoilage odours to the type of packaging for raw pork sausages.

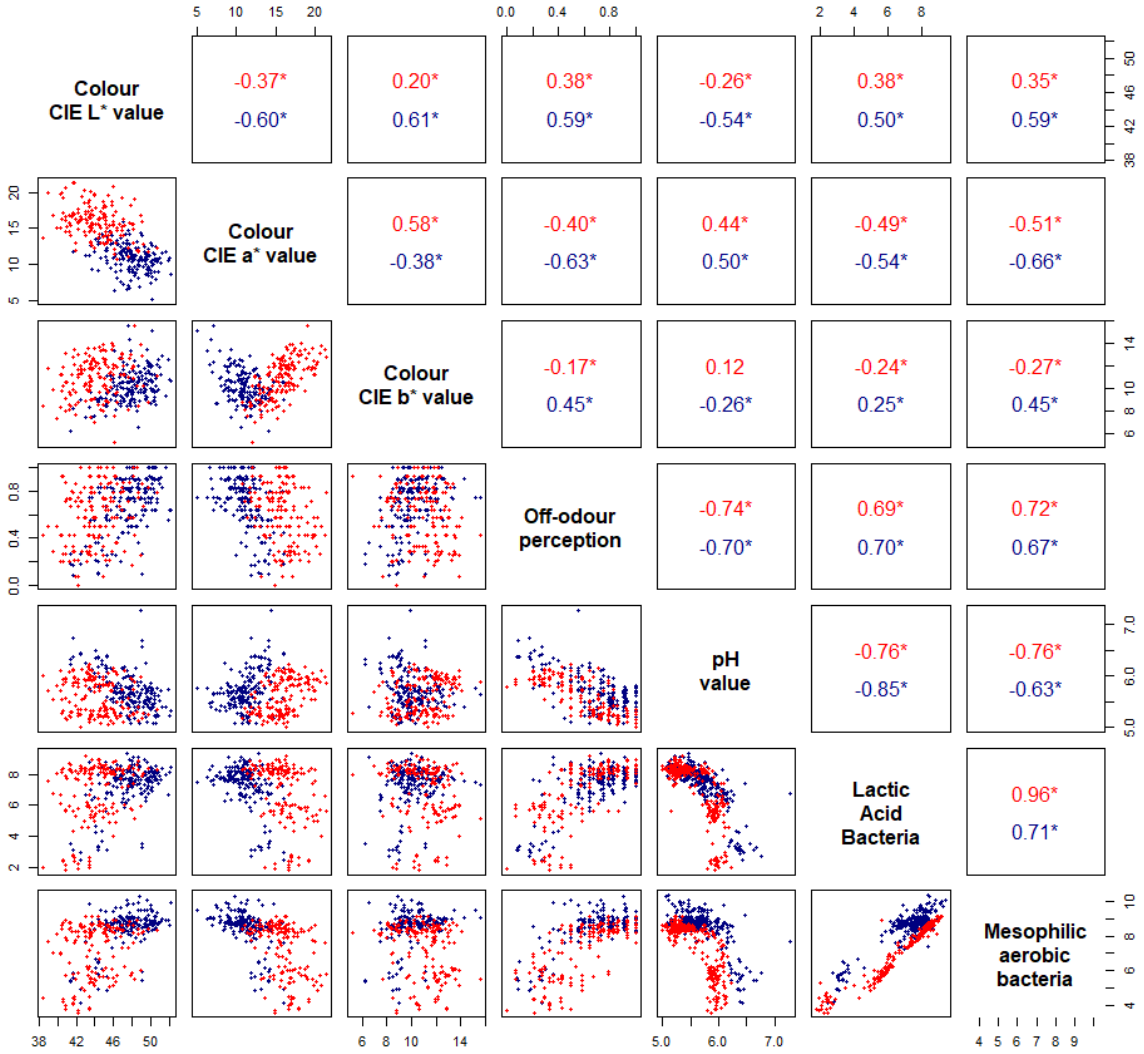


Figure III. 3 Pairwise plots between sensory, physico-chemical and microbiological responses monitored during chilled storage of pork and turkey sausages. The lower graphs correspond to the scatter plot between responses. The blue (resp. red) points correspond to the turkey (resp. pork) sausages. The Spearman's correlation rank sum coefficients between responses are shown in the upper graph. * $p < 0.05$ for Spearman's correlation rank sum test. Example for reading values: the correlation coefficient between b* value and pH was 0.12 with $p > 0.05$ - not significant (resp. -0.26 with $p < 0.05$ - significant) in pork (resp. turkey) sausages.

3.2 Effect of lactate formulation and modified atmosphere packaging on spoilage indicators: turkey *versus* pork sausages

The effects of storage time, gas composition and lactate formulation on the off-odour score, colour attributes, pH and enumeration of LAB and TAMB and corresponding p-values estimated from mixed effect analyses are summarised in Table III. 2. Since these factors influenced differently on different responses, the model including the retained significant effect was different from one response to another. For each response presented in Table III.

2, the intercept value of the model, denoted α, corresponded to a reference condition ("Current dose of lactate – Air packaging – Day 2"). The effects of lactate, packaging and time point, if significant, were estimated through the estimation of their corresponding coefficients, *i.e* δ, γ and β, respectively, gathered in Table III. 2. Each response (TAMB, LAB, off-odour score, colour and pH) at a condition was estimated from the sum of the intercept value of the model α and the coefficients corresponding to the considered modality of significant main effects or interactions. The random effects of production batches on each spoilage response were expressed in standard deviation. For simplification purpose, significant interactions were represented in plots provided in Supplementary data (Fig. III.S 7)

Linear mixed effects analyses for relationship between spoilage responses and the storage time, packaging and lactate formulation: significance and estimations. For each response and each matrix, the intercept coefficient corresponds to the reference modality ('Current dose of lactate – Air packaging – Day 2'). The reference model (M0) included three main fixed effects (storage time, packaging and lactate formulation) and random effects of production batches on intercept. For each fixed effect, the coefficient corresponding to each modality estimated by maximisation of the likelihood of (M0). The p-value corresponding to each fixed effect was obtained by testing the log-likelihood of (M0) against the model without the effect in question (χ^2 likelihood ratio test). p-value significant codes: '*' < 0.05, '**' < 0.01, '***' < 0.001. The significant effects with p-value < 0.05 were retained in model for estimations. The coefficients corresponding to different modalities of each significant main effect are given in the column 'Estimates – sd'. The coefficients corresponding to different cross modalities of each significant interaction effect are plotted in Fig. S7. The random effects of production batches and residual from random effects, expressed in standard deviation, were estimated from model with only significant main and interaction effects.

Table III. 2 Linear mixed effects analyses for relationship between spoilage responses and the storage time, packaging and lactate formulation: significance and estimations.

			Poultry					Pork				
	Effect	**Model adjustment**	**Estimates ± sd**	**p-Value**		**Random effects of batches (sd)**	**Residual of random effects**	**Estimates ± sd**	**p-Value**		**Random effects of batches (sd)**	**Residual of random effects**
Off-odour score	Reference modality (Intercept) α		0.22 ± 0.02			0.01	0.11	0.30 ± 0.03			0.02	0.14
	Storage time β	Day 8	+0.39 ± 0.02	< 0.0001	***			+0.06 ± 0.03	< 0.0001	***		
		Day 15	+0.55 ± 0.02					+0.34 ± 0.03				
		Day 22	+0.63 ± 0.02					+0.51 ± 0.03				
	Packaging γ	MAP1	-0.00 ± 0.03	0.0028	**			-0.01 ± 0.02	0.0092	**		
		MAP2	-0.00 ± 0.03					+0.06 ± 0.02				
	Lactate δ	Zero lactate	+0.06 ± 0.02	0.0002	***				0.4439			
	Interaction	Storage time x Packaging	*Fig.III-S7/C1*	< 0.0001	***				0.3550			
		Storage time x Lactate		0.5474					0.7969			
		Packaging x Lactate		0.4380					0.7103			
pH value	Reference modality (Intercept) α		6.46 ± 0.05			0.12	0.12	5.98 ± 0.03			0.08	0.11
	Storage time β	Day 8	-0.44 ± 0.04	< 0.0001	***			-0.04 ± 0.02	< 0.0001	***		
		Day 15	-0.87 ± 0.04					-0.50 ± 0.02				
		Day 22	-0.86 ± 0.04					-0.76± 0.02				
	Packaging γ	MAP1	+0.00 ± 0.03	< 0.0001	***				0.7484			
		MAP2	+0.00 ± 0.03									
	Lactate δ	Half dose	-0.10 ± 0.03	< 0.0001	***				0.0544			
		Zero lactate	-0.11 ± 0.03									
	Interaction	Storage time x Packaging	*Fig.III-S7/C4*	< 0.0001	***				0.6099			
		Storage time x Lactate	*Fig.III-S7/C3*	0.0020	**				0.6068			
		Packaging x Lactate		0.7496					0.9963			
Enumeration of Lactic Acid Bacteria	Reference modality (Intercept) α		3.36 ± 0.10	*NR*		0.25	0.37	2.26 ± 0.08			0.11	0.47
	Storage time β	Day 8	+3.67 ± 0.10	< 0.0001	***			+3.41 ± 0.08	< 0.0001	***		
		Day 15	+4.80 ± 0.10					+5.76 ± 0.08				
		Day 22	+4.64 ± 0.10					+5.92 ± 0.08				
	Packaging γ	MAP1	+0.00 ± 0.10	< 0.0001	***				0.0935			
		MAP2	+0.00 ± 0.11									
	Lactate δ	Half dose		0.7067				+0.30 ± 0.07	< 0.0001	***		
		Zero lactate						+0.10 ± 0.07				
	Interaction	Storage time x Packaging	*Fig.III-S7/C7*	< 0.0001	***				0.2195			
		Storage time x Lactate		0.9999					0.3469			
		Packaging x Lactate		0.6703					0.7820			

Enumeration of Mesophilic aerobic bacteria	Reference modality (Intercept) α		5.43 ± 0.12			0.20	0.40	4.18 ± 0.12			0.18	0.44	
	Storage time β	Day 8	+3.11 ± 0.15	< 0.0001	***			+2.06 ± 0.13	< 0.0001	***			
		Day 15	+3.69 ± 0.15					+4.08 ± 0.13					
		Day 22	+3.33 ± 0.15					+4.27 ± 0.13					
	Packaging γ	MAP1	+0.00 ± 0.12	0.0128	*				0.0940				
		MAP2	-0.00 ± 0.12										
	Lactate δ	Half dose	+0.11 ± 0.11	0.0361	*			+0.17 ± 0.07	0.0157	*			
		Zero lactate	+0.42 ± 0.11					+0.03 ± 0.07					
	Interaction	Storage time x Packaging	*Fig.III-S7/C2*	0.0002	**			*Fig.III-*	0.0105	*			
		Storage time x Lactate	*Fig.III-*	0.0368	*				0.1976				
		Packaging x Lactate		0.9947					0.9679				
L* value	Reference modality (Intercept) α		44.13 ± 0.43			0.95	1.49	41.17 ± 0.42			0.45	1.97	
	Storage time β	Day 8	+2.24 ± 0.40	< 0.0001	***			+2.17 ± 0.41	< 0.0001	***			
		Day 15	+3.69 ± 0.40					+2.60 ± 0.41					
		Day 22	+3.65 ± 0.40					+2.73 ± 0.41					
	Packaging γ	MAP1		0.8847				+0.89 ± 0.35	0.1216	*			
		MAP2						+0.08 ± 0.35					
	Lactate δ	Zero lactate	-0.00 ± 0.04	< 0.0001	***			+0.80 ± 0.29	0.0060	**			
	Interaction	Storage time x Packaging		1.0000					1.0000				
		Storage time x Lactate	*Fig.III-S7/C6*	0.0027	*				0.5541				
		Packaging x Lactate		0.6750					0.0280				
a* value	Reference modality (Intercept) α		13.55 ± 0.32			0.55	1.11	16.81 ± 0.43			0.82	1.20	
	Storage time β	Day 8	-0.64 ± 0.37	< 0.0001	***			-0.74 ± 0.43	< 0.0001	***			
		Day 15	-2.34 ± 0.37					-1.12 ± 0.43					
		Day 22	-3.41 ± 0.37					-1.45 ± 0.43					
	Packaging γ	MAP1	-0.00 ± 0.37	< 0.0001	***			+0.24 ± 0.45	< 0.0001	***			
		MAP2	-0.00 ± 0.37					+0.24 ± 0.45					
	Lactate δ	Zero lactate		0.1976					0.2302				
	Interaction	Storage time x Packaging	*Fig.III-S7/C5*	< 0.0001	***			*Fig.III-*	< 0.0001	***			
		Storage time x Lactate		0.5700					1.0000				
		Packaging x Lactate		0.6164					0.3791				
b* value	Reference modality (Intercept) α		8.74 ± 0.34			0.62	1.00	10.85 ± 0.47			1.02	1.13	
	Storage time β	Day 8	+0.57 ± 0.39	< 0.0001	***			+0.47 ± 0.41	< 0.0001	***			
		Day 15	+0.69 ± 0.39					+0.36 ± 0.41					
		Day 22	+1.31 ± 0.39					-0.04 ± 0.41					
	Packaging γ	MAP1	-0.00 ± 0.33	< 0.0001	***			+0.20 ± 0.42	0.0005	***			
		MAP2	-0.00 ± 0.33					+0.20 ± 0.42					

Lactate δ	Zero lactate	+0.00 ± 0.27	<0.0001	***	+0.29 ± 0.17	0.0884		
Interaction	Storage time x Packaging	*Fig.III-S7/C8*	0.0050	**	*Fig.III-*	0.0019	**	
	Storage time x Lactate	*Fig.III-S7/C9*	0.0171	*		1.0000		
	Packaging x Lactate		0.2682			0.4564		

For each response and each matrix, the intercept coefficient corresponds to the reference modality ('Current dose of lactate – Air packaging – Day 2'). The reference model (M0) included three main fixed effects (storage time, packaging and lactate formulation) and random effects of production batches on intercept. For each fixed effect, the coefficient corresponding to each modality estimated by maximisation of the likelihood of (M0). The p-value corresponding to each fixed effect was obtained by testing the log-likelihood of (M0) against the model without the effect in question (χ^2 likelihood ratio test). p-value significant codes: '*' < 0.05, '**' < 0.01, '***' < 0.001. The significant effects with p-value < 0.05 were retained in model for estimations. The coefficients corresponding to different modalities of each significant main effect are given in the column 'Estimates – sd'. The coefficients corresponding to different cross modalities of each significant interaction effect are plotted in Fig. III-S7. The random effects of production batches and residual from random effects, expressed in standard deviation, were estimated from model with only significant main and interaction effects.

3.2.1 Random effect of batches

The mixed effect model enabled firstly to estimate random effects of production batches on each response and to take into account non-independence of data. These random effects corresponding to the biological variabilities between production batches could represent an important effect. For example, the random effect between batches on the pH value, expressed in standard deviation, was estimated at 0.12 for turkey sausages (Table III. 2). This effect was nearly close to the one of lactate on the same response, since using 'Half dose' or 'Zero lactate' formulations instead of the 'Current dose' in turkey only reduced pH only from 0.10 to 0.11. Hence, these results suggested that the acidification was firstly different from one production batch to another and the evolution was rather important over time. Similar patterns were observed for the enumeration of total aerobic mesophilic bacteria in turkey: the random effect of production batches, estimated at 0.20 log CFU/g in standard deviation, was close to the effect of lactate where 'Half dose' and 'Zero lactate' formulations increased 0.11 and 0.42 log CFU/g, respectively. These results suggested that the evolution of the bacterial growth over time could possibly be influenced by the random variability on initial bacterial load in the meat matrices as well as by preservation strategies. Therefore, random biological variabilities from different production batches could have notable influence on spoilage comparing with the storage time, packaging or formulation and should not be overlooked.

3.2.2 Effects of lactate formulation

The content of potassium lactate differently affected the measured responses, depending on the meat matrices (Table III. 2) with more significant effects in turkey than in pork.

Similar significant effects of lactate on both matrices were observed on the CIE L^* value and on the enumeration of TAMB. The obtained results suggested that increasing the dose of lactate could limit the 'whitening' trend in both matrices. This effect of lactate on L^* was observed especially in turkey, since the L^* value at the end of storage was more than one point higher in the 'Zero lactate' formulation than in the 'Current dose' one. The slowed changes of the colour shading were also observed by in pork sausages containing lactate.

In turkey sausages exclusively, the model estimation suggested other potential effects of lactate addition. Hence, increasing the initial lactate contents could limit significantly the off-odour perception, pH acidification and 'yellow discolouration'. Indeed, the formulation 'Current dose' in turkey (2% w/w) reduced the off-odour score of nearly 6% at every time point (Table III. 2) compared to the 'Without lactate' one. The pH value was significantly higher in sausages with the 'Current dose' than with lower doses (drop of 0.10 and 0.11 in pH if half or the entire dose was removed from the formulation). These results were consistent with previous findings. An increase of pH consequently to lactate addition was

also found by Bouju-Albert et al. (2017) in pork sausages and by Tovunac et al. (2011) in chicken frankfurters, conferring an acidification inhibitor power to lactate. Earlier studies in the literature have also indicated a positive effect of lactate additive on colour stability in turkey meat products (Cegielska-Radziejewska & Pikul, 2004). At last, despite the significant effect of lactate on TAMB in turkey, removing the entire dose of lactate from sausages was estimated to increase only their enumeration of 0.42 log CFU/g.

In pork sausages, lactate addition was shown to have limited effects. The only other effect identified was associated with the slowing growth of LAB. However, as for TAMB, this effect should be considered cautiously since increasing the dose of lactate would only reduce about 0.10-0.30 log CFU/g despite the significant statistical effects. These results on pork sausages were consistent with previous studies of Bradford et al. (1993) and Drosinos et al. (2006). The former showed that potassium lactate addition reduced slightly the aerobic bacterial population of about 0.3 log CFU/g but did not affect sensory properties, while the latter suggested that 3% of a mixture of potassium lactate and potassium acetate slightly inhibited LAB growth in untreated frankfurters.

3.2.3 Evolution of gas composition and effects of modified atmosphere packaging

The use of different initial gas compositions in packaging was shown to differently affect discolouration, off-odour perception and acidification in turkey and in pork. First, for both matrices, the 'MAP1 (70%O_2-30% CO_2)' seemed to accelerate the loss of the 'red shade' of the sausages comparing with the 'Air packaging', since the CIE a^* value decreased significantly in both matrices (from 13.55 to 9.15 in average in turkey and from 16.8 to 13.05 in pork at day 22, Table III. 2). In the presence of oxygen, metmyoglobin is generated because of the formation of oxygen radicals stimulated by metal ions (iron, copper) (AMSA, 2012). In contrast, the CIE b^* value was observed to increase in turkey (from 8.87 to 11.73 at day 22) and decrease in pork (from 11.1 to 9.67 at day 22), whereas the CIE L^* values (lightness) increased by two points at day 22 especially in pork, but not in turkey. The loss of the red shade under 'MAP1:70% O_2-30% CO_2' was unexpected since high oxygen concentration favours transformation of myoglobin in meat into bright red coloured oxymyoglobin and generally used to maintain the red pigment in red meat products such as beef steaks (Djenane et al., 2003) or ostrich steaks (Leygonie et al., 2011). Nevertheless, it has to be noted that the O_2 concentration initially present at 70% at the beginning of the storage had decreased to only 3.1 – 5% at day 15 (data published in data paper by Poirier et al. (2020), presumably due to bacterial metabolism and oxidation reactions, rather than oxygen leakage from the package, considering the high barrier film with very low transmission rate. Also, as reported by Benson et al. (2014), the red pigment retention by high-O_2 packaging only lasts for a short time and the CIE a^* value could decrease quickly

after 8 days of storage, which could explain the drop of a^* in our study. Moreover, oxidation and formation of metmyoglobin might be responsible for the a^* decrease as suggested by Veberg et al. (2006). Second, using 'MAP2:50% CO_2-50% N_2' instead of 'Air packaging' had very little effects on the CIE b^* value. Globally, the use of 'MAP1:70% O_2-30% CO_2' was associated with a discolouration into a 'yellow-brown' in turkey sausages presumably due to lipid oxidation and a 'loss of red' in pork sausages, and the 'MAP2:50% CO_2- 50% N_2' was associated with a 'loss of red-yellow' off-colour in turkey and 'light red/purplish' in pork. Regarding the off-odour perception, using 'MAP2: 50% CO_2-50% N_2' seemed more relevant to reduce the off-odour perception. Turkey sausages stored under this MAP represented off-odour scores at the 8th day after production (0.45-0.52) lesser than in 'Air' or 'MAP1: 70%O_2-30%N_2' (0.62 – 0.74) (Table III. 1, Fig. III.S 7-C1). However, in pork sausages, using MAP2 instead of 'Air packaging' increased slightly the spoilage off-odour of pork sausages (up to 6%, Table III. 2). The gas atmosphere MAP1 enriched in oxygen was shown to be especially detrimental for turkey sausages. High concentration of oxygen is known to promote lipid oxidation and especially in meats which have been minced or homogenized because disruption of muscle cell structure exposes lipids to oxygen, metals and heme (Sato, K., Hegarty, 1971; Veberg et al., 2006). Veberg et al. (2006) observed that turkey patties were more susceptible to lipid oxidation when stored under high oxygen concentration (70% O_2 – 30% CO_2) than pork patties. The authors explained this difference by the composition of turkey meat which is richer in lipids (turkey:9.6%, pork 3.1%) and especially in unsaturated fatty acids such as oleic (C18:1n-9) and linoleic (C18:2n-6) acids.

Slowing the onset of clearly recognizable off-odour or off-flavour by using MAP containing 30% to 65% CO_2 instead of air, was also observed by Balamatsia et al. (2007) in breast chicken. The increased off-odour could be explained by the promoting oxidation effect of CO_2 on lipids Martinez et al. (2005).

Considering the acidification, MAP1 seemed to slow down acidification over time in turkey, more efficiently than MAP2 (with a higher percentage of CO_2). In pork sausages, the initial gas composition, and especially the presence of CO_2 in the packaging did not decrease the pH. Similar results have been found by Rubio et al. (2007) in dry fermented pork sausages where acidification was not influenced by MAP and especially CO_2, even if decrease in pH values was generally attributed to the activity of lactobacilli and the dissolution of CO_2 into meat product. The absorption of CO_2 by meat leading to a lowering of pH has been reported for instance by Martinez et al. (2005) in fresh pork sausages.

At last, our analyses also identified no or very low effects (less than 0.10 log CFU/g) of MAP on the enumeration of TAMB and LAB in both matrices. These results are in agreement with the findings of Balamatsia et al. (2006) and Rossaint et al. (2015) in breast chicken and Nieminen et al. (2016) in raw pork loins. Hence, the well-known antimicrobial

effect of CO_2 (Farber, 1991; Jakobsen & Bertelsen, 2002) could not be shown by enumerating bacterial counts but is likely to occur by inhibiting some aerobic bacteria (Säde et al., 2013).

3.2.4 Effects on visual defects

The evolution of the visual defects (including packaging swelling and exudate) are shown in Figure III. 4. Globally, no defect was observed on the first day of storage, and defects occurred earlier in turkey than in pork.

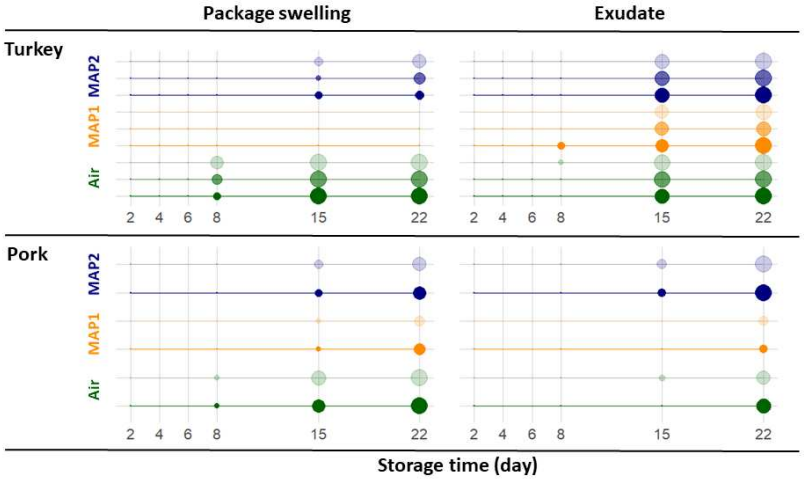


Figure III. 4 Visual alterations of sausages during chilled storage (Packaging swelling and Exudate). The point size is correlated to the to the number of spoiled batches. The smallest points correspond to 0 spoiled batch (day 2), the biggest points correspond to 10 spoiled batches (e.g. turkey, under Air packaging at day 22). The green (resp. orange and blue) points and lines correspond to the "Air packaging" (resp. "MAP1" and "MAP2"). MAP1:70%O2-30%CO2, MAP2:50%CO2-50%N2. For each packaging, the lightness of the points corresponds to the lactate formulation (very light colour: "Without lactate", light colour: "Half dose of lactate" and dark colour "Current dose of lactate"). Turkey: "Without lactate" = 0g/kg, "Half dose of lactate" = 10g/kg, "Current dose of lactate" = 20g/kg. Pork: "Without lactate" = 0g/kg, "Half dose of lactate" = 5.65g/kg (visual defects not evaluated), "Current dose of lactate" = 11.3g/kg.

The number of samples presenting package swelling increased over time, but earlier and more often in turkey than in pork sausages. Swelling is generally associated with the so-called 'blown pack' phenomenon. It is most often due to production of CO_2 by bacteria but it can also be associated with other volatile molecules (Dousset et al., 2016). This spoilage-associated defect is commonly due to metabolism of *Enterobacteriaceae* and cold-tolerant *Clostridium* spp., in particular *Clostridium estertheticum* and *Clostridium gasigenes* (Remenant et al., 2015; Zagorec & Champomier-Vergès, 2017). In turkey, swelling occurred earlier (from the 8th day of storage) in the 'Air packaging' than in 'MAP2: 50% CO_2-50% N_2' (from the 15th day of storage), and in 'MAP1: 70% O_2-30% CO_2', no package swelling was observed along the whole storage duration.

Exudate formation is another spoilage-associated defect. Very few samples presented exudate before the 15th day of storage. From the 15th day, exudate occurred in some samples of pork sausages, and in almost all turkey samples from this time point. Chicken muscle is

recognised as producing exudate easily (Varnam & Sutherland, 1995). Moreover, mincing operations are also known to induce more physical disruption to turkey than to other meats and then favour myofibrillar protein extraction and exudate formation (Arnaud et al., 2014). Figure III. 4 suggested that (i) the two studied visual defects seemed to be independent on the lactate contents, and (ii) MAP seemed to influence exclusively the package swelling in turkey sausages, and exudate formation in pork sausages. Indeed, package swelling and exudate formation seemed to be higher under MAP2 containing high CO_2 concentration. High CO_2 concentration favours protein solubilisation which is necessary to exudate formation whereas package swelling may occur following saturation of the meat with CO_2 (C. O. Gill, 1990). Unfortunately, the statistical analyses for identifying effects of storage time, lactate and packaging on the qualitative responses for visual defects could not be done as for quantitative responses in the previous section, essentially due to their important variability between conditions. Indeed, the important changes in the number of samples presenting a defect from one storage time point to another (e.g. for exudate: Day 8 (no batch presenting an exudate) versus Day 15 (all batches presenting an exudate)) or one packaging to another (e.g. 'Air packaging' versus 'MAP1) could be a reason of several difficulties in the adjustment of the logistic model.

3.3 Correlated responses of spoilage and relationships with preservation strategies

The results above allowed us to perceive the complexity of the spoilage phenomenon. The effects of lactate and MAP on the three highly correlated measures responses, *i.e.* pH, LAB count and off-odour score were illustrated in Figure III. 5.

In both matrices, the three responses were strongly correlated. In turkey, the increase in initial potassium lactate content decreased the off-odour score and acidification but did not influence LAB growth. In contrast, in pork, lactate had no effect on defects such as off-odour or acidification. The mechanism underlying the effect of lactate would not be linked to LAB growth (Figure III. 5a). Potassium lactate was first used as humectant and flavour enhancer in beef and turkey meat products with increased cooking yields and water holding capacity (Shelef, 1994). It has also shown antimicrobial properties at the recommended levels of 2% (w/w) with growth inhibition effects on *Listeria monocytogenes*, coliforms, aerobes, and *Clostridium*, by lowering the internal pH of bacteria (Shelef, 1994). Lactate is supposed to act into two steps. At first, it decreases water activity due to its hygroscopicity. Then it crosses the cytoplasmic membrane of microbial cells and dissociates, thereby releasing protons and acidifying the internal pH, which inhibits bacterial growth (Tovunac et al., 2011). However, the influence of lactate on spoilage occurrence has been poorly documented.

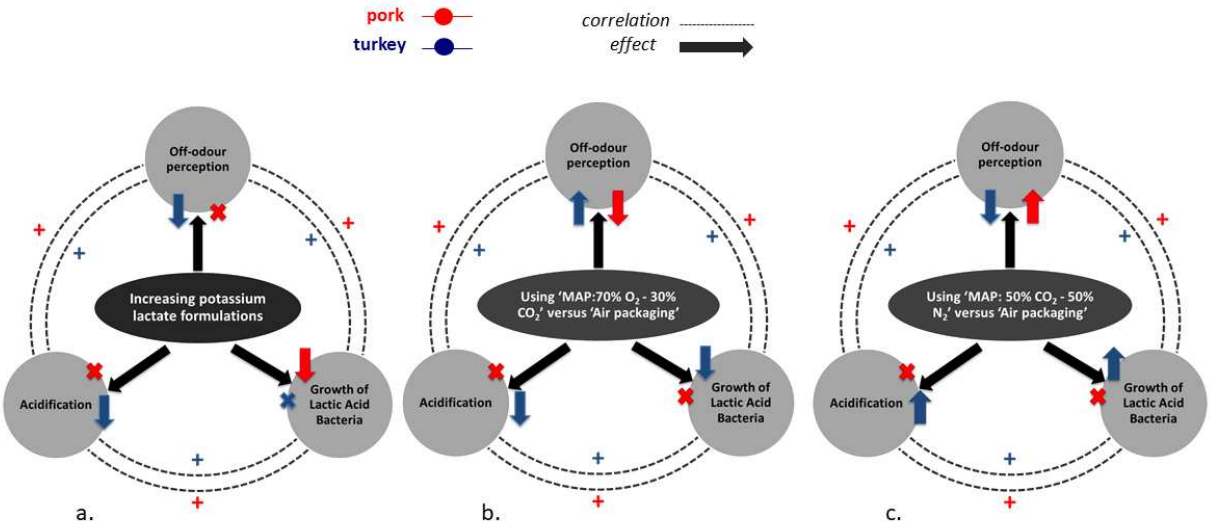


Figure III. 5 Schematic representation of the effects of process parameters on acidification, growth of LAB and off-odour perception. a. Influence of increasing potassium lactate. b. Effect of the replacement of air by the MAP1 70% O2 – 30% CO2. c. Effect of the replacement of air by MAP2 50% CO2 – 50% N2. The positive (resp. negative) signs correspond to the significant positive (resp. negative) correlation between spoilage responses (Spearman's correlation). The ascending arrows (resp. descending arrows and crosses) representing the significant increases (resp. decreases or absence of the effect) of the response by the used preservation strategy according to mixed effect analyses.

As shown in Figure III. 5b, in turkey, the three measured responses were positively correlated. MAP2:50% CO_2-50% N_2 slightly increased LAB counts and pH, but decreased the off-odour despite the positive correlation. The atmosphere deprived of O_2 but enriched in CO_2 would have favoured LAB growth, leading to intensified acidification through lactic acid production. The selection pressure of high-CO_2 atmospheres toward psychrotrophic and strictly or facultative anaerobic microbes like LAB is well-known (Pothakos et al., 2015). However, the bacteria responsible for the off-odour perception have not been identified and might not be only LAB. Volatile organic compounds (VOCs) of microbial origin including organic acids, volatile fatty acids, ethyl esters, sulphur compounds, ketones, aldehydes, alcohols, ammonia and other molecules have been associated with off-odours. LAB may produce acids but also alcohols, aldehydes and sulphur compounds (Pothakos et al., 2015). Hence, the involvement of LAB in spoilage was not straightforward. In contrast, in pork, MAP2:50% CO_2-50% N_2 without O_2 had no effect either on pH or LAB count, but increased off-odour perception through an unknown mechanism. Finally, as shown in Figure III. 5c, the use of MAP1 enriched in O_2 decreased the off-odour although it had no effect on LAB count and pH value. LAB constitute a heterogeneous group with specific metabolic abilities. Despite the same bacterial count, there may be differences in LAB species. Therefore, the cause-effect mechanism between these three correlated measured responses was then difficult to understand and would require in-depth characterisation of the bacterial communities.

4 Conclusion

In this study the influence of batch variability, lactate formulation and MAP were studied on industrially produced pork and turkey sausages. The random effect of production batches was found to be not negligible and justified the necessity of considering biological variability, as well as non-independent experiment design in studies relative to spoilage. Despite initial batch variability, the studied preservation strategies combining MAP and lactate addition were shown to significantly influence the studied spoilage responses but in a different way for turkey and pork. Our results suggested that for fresh turkey sausages, the lactate formulation of 2% (w/w) combining with MAP (50% CO_2-50% N_2) reduced significantly acidification, off-odour perception and prevented discolouration of sausages from red to dark grey / brown colour. In pork sausages, the lactate formulation of 1.13% (w/w) currently used in the French industry did not significantly influence the monitored spoilage responses compared to products without lactate, but the MAP (70% O_2-30% CO_2) slightly reduced the off-odour perception. Our results allow us to perceive the complexity of the spoilage phenomenon which was characterised by different correlated spoilage responses. The cause-effect mechanism between these correlated responses and the choice of an appropriate preservation strategy would require in-depth characterisation of the bacterial ecosystem structure.

The mixed effect model method used enabled to consider non-independencies between conditions from the same batch and random variabilities between batches. The results showed that the modified atmosphere enriched in oxygen should be avoided for turkey sausages because of the off-odours presumably due to lipid oxidation. Regarding pork sausages, addition of lactate should be questioned since the shelf-life of pork sausage did not seem to be longer in the presence of lactate. However, the influence of lactate on pathogenic microorganism loads should be studied.

This study revealed that the relevance of certain industrial practices, sometimes empirical, regarding the use of food additives and modified atmosphere needs to be regularly reassessed while taking advantage of the advancement of knowledge and methods.

Supplementary data (available online at https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109501)

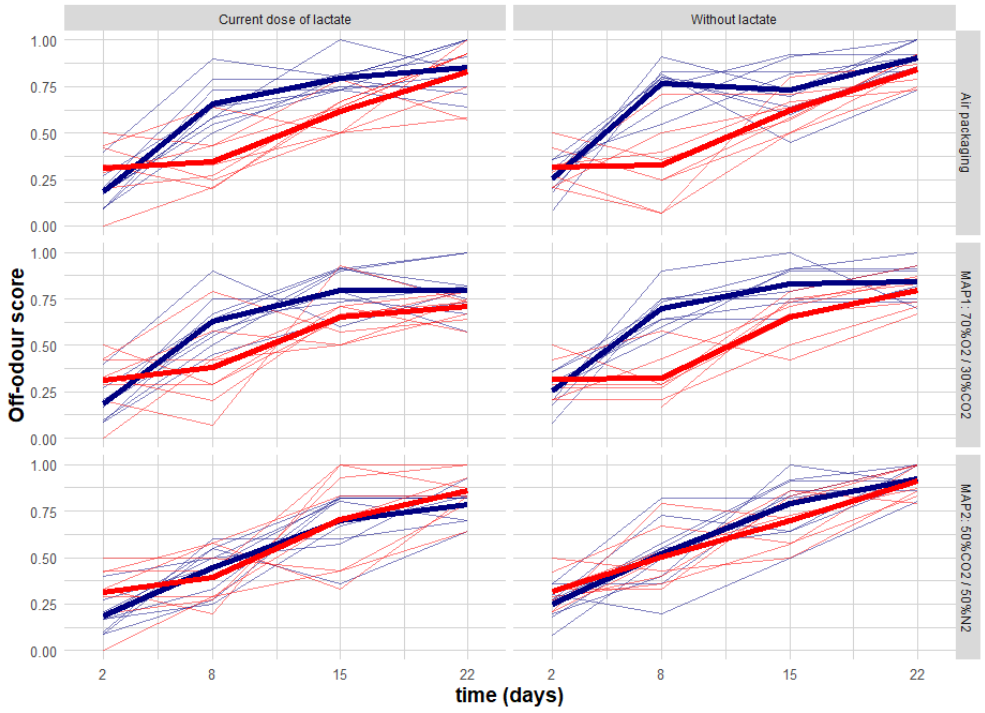


Fig. III-S. 1 Off-odour score evolution as a function of experimental conditions (concentration of lactate and atmosphere packaging). For each condition, the blue (resp. red) curves correspond to the turkey (resp. pork) sausages. The different thin curves correspond to different batches. The thick curves correspond to the inter-batch average curve.

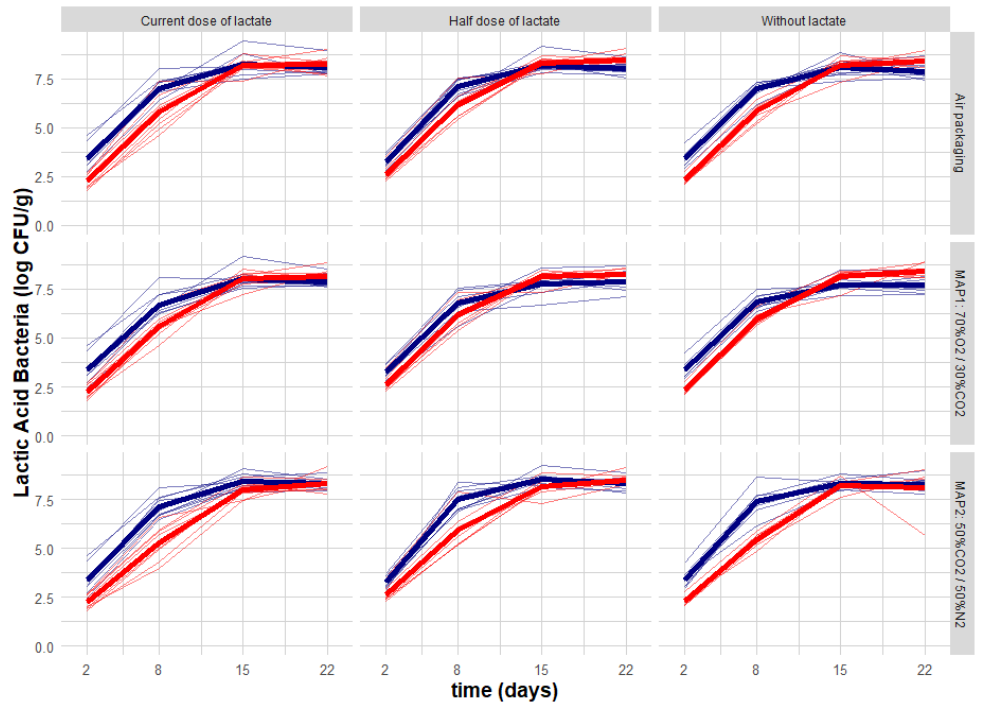


Fig. III-S. 2 Lactic acid bacteria enumeration as a function of experimental conditions (concentration of lactate and atmosphere packaging). For each condition, the blue (resp. red) curves correspond to the turkey (resp. pork) sausages. The different thin curves correspond to different batches. The thick curves correspond to the inter-batch average curve.

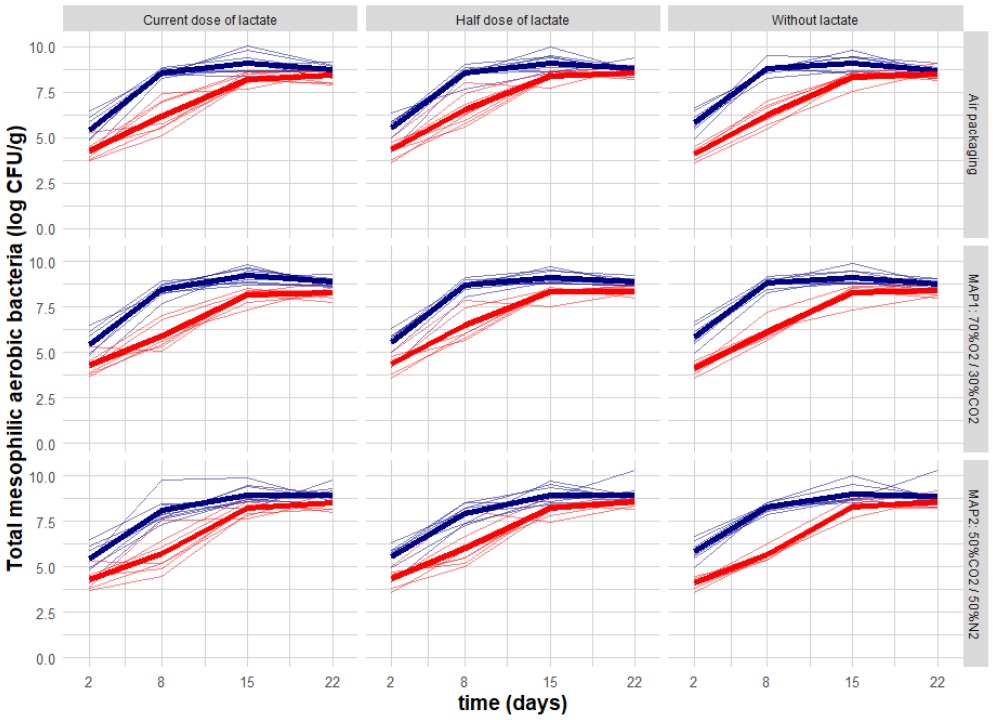


Fig. III-S. 3 Total mesophilic aerobic bacteria enumeration as a function of experimental conditions (concentration of lactate and atmosphere packaging). For each condition, the blue (resp. red) curves correspond to the turkey (resp. pork) sausages. The different thin curves correspond to different batches. The thick curves correspond to the inter-batch average curve.

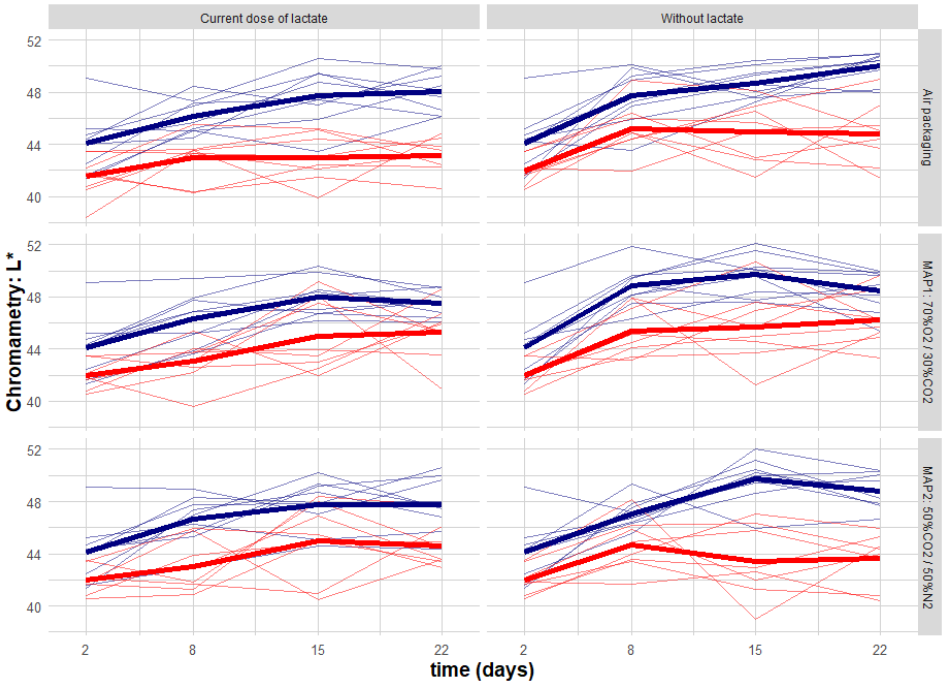


Fig. III-S. 4 Evolution of the CIE L* value as a function of experimental conditions (concentration of lactate and atmosphere packaging). For each condition, the blue (resp. red) curves correspond to the turkey (resp. pork) sausages. The different thin curves correspond to different batches. The thick curves correspond to the inter-batch average curve.

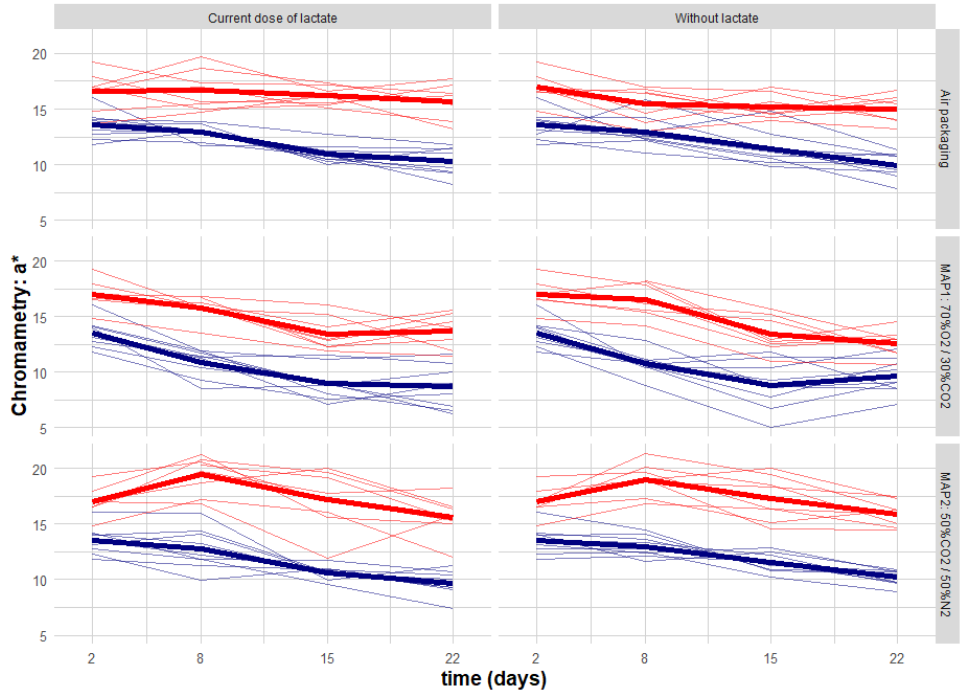


Fig. III-S. 5 Evolution of the CIE a* value as a function of experimental conditions (concentration of lactate and atmosphere packaging). For each condition, the blue (resp. red) curves correspond to the turkey (resp. pork) sausages. The different thin curves correspond to different batches. The thick curves correspond to the inter-batch average curve.

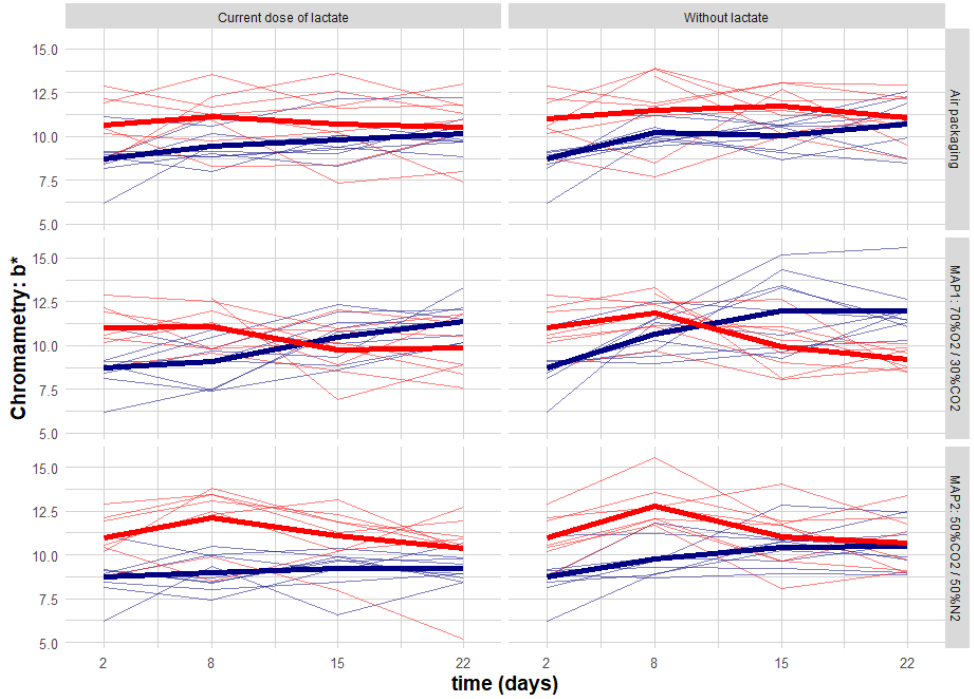


Fig. III-S. 6 Evolution of the CIE b* value as a function of experimental conditions (concentration of lactate and atmosphere packaging). For each condition, the blue (resp. red) curves correspond to the turkey (resp. pork) sausages. The different thin curves correspond to different batches. The thick curves correspond to the inter-batch average curve.

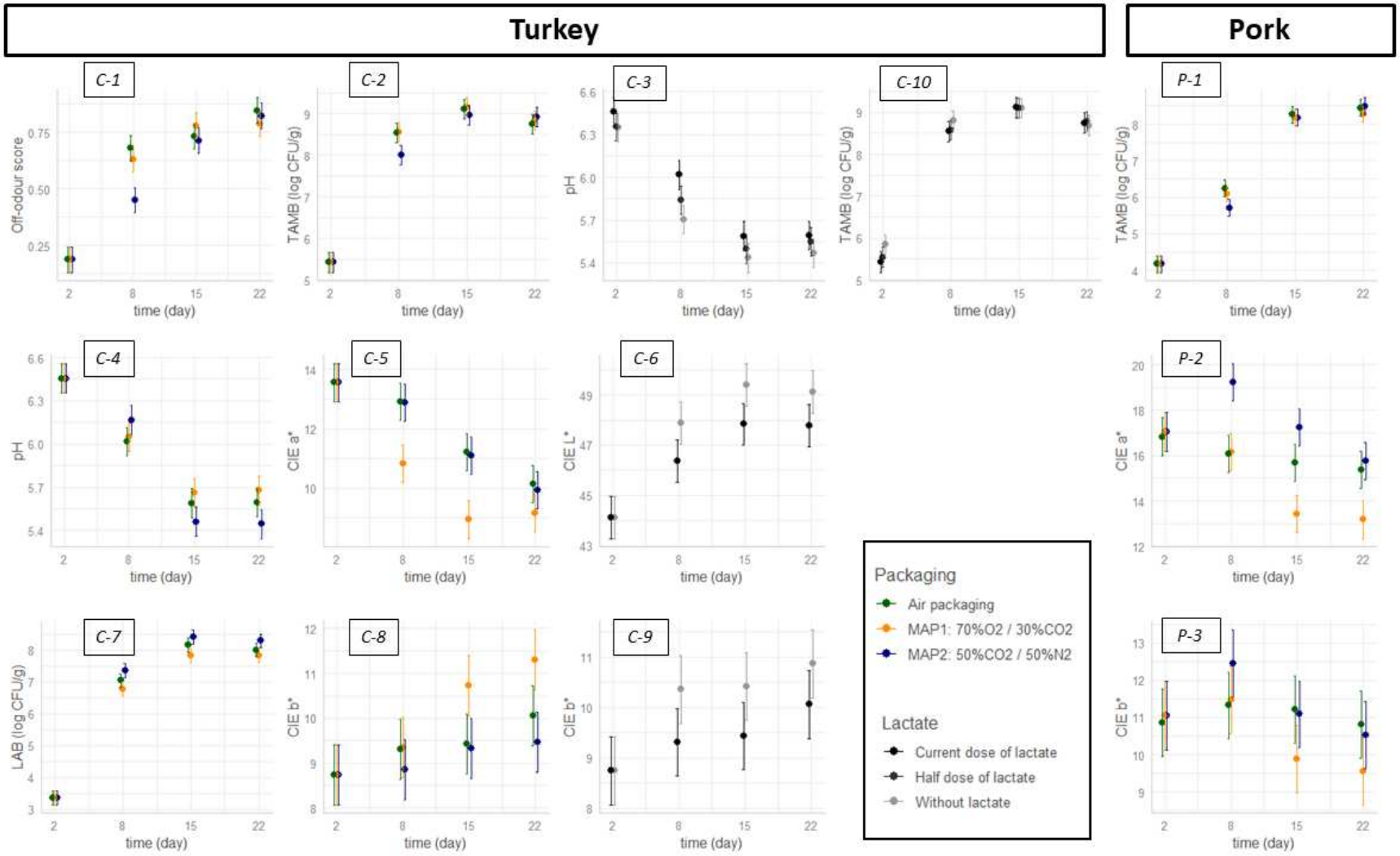


Fig. III-S. 7 Estimated coefficients for interactions between fixed factors of storage time, packaging or lactate on spoilage responses in pork and turkey sausages. C: Turkey, P: Pork. Only significant interactions (p-value < 0.05) are shown (Table III. 2). The coefficients are plotted by point estimates and 95% confidence interval using the R package 'sjPlot'. The different colours correspond to the different packaging and initial concentrations of lactate.

Synthèse et conclusion du chapitre

Ce chapitre consiste en une première phase d'analyse exploratoire visant à étudier l'effet sur du temps de stockage, de la formulation en lactate et de l'atmosphère protectrice sur différentes réponses d'altération simples mesurées sur les saucisses de volaille et de porc. Il s'agissait des réponses sensorielles (score sensoriel olfactif calculé par la proportion du panel sensoriel qui perçoit une odeur d'altération, les mesures de couleurs CIE L^* a^* b^* et la présence de deux défauts visuels : gonflement des barquettes et exsudat), microbiologiques (dénombrement de la charge totale des bactéries aérobies mésophiles et des bactéries lactiques) et de la mesure du pH. Pour chaque réponse considérée, les effets des trois facteurs 'temps', 'lactate' et 'atmosphère' ont été étudiés en utilisant un modèle linéaire à effet-mixte avec la prise en compte de la variabilité entre les lots de production comme effet aléatoire.

Il a été observé sans surprise que pour les deux matrices, toutes les réponses étudiées étaient significativement différentes entre les temps de stockage, suggérant ainsi le caractère dynamique de l'altération. De plus, l'évolution de ces réponses semblait plus rapide pour les saucisses de volaille que pour le porc, probablement dû à la composition différente entre ces deux types de viande. Les réponses étaient aussi très fortement corrélées entre elles, notamment entre le pH, le score sensoriel olfactif et la charge des flores totales et des bactéries lactiques.

Les effets du lactate et de l'atmosphère protectrice étaient différents entre les réponses étudiées et entre les matrices. Pour les saucisses de volaille, l'ajout du lactate (20g/kg) peut limiter notamment la perception d'odeurs d'altération et la réduction du pH, en revanche, pour le porc, le lactate présentait peu d'effets sur les réponses étudiées jusqu'ici. En ce qui concerne l'effet du conditionnement (1) pour les saucisses de volaille, par rapport à un conditionnement sous air : l'utilisation de l'atmosphère enrichie en oxygène (MAP1 :70%O_2-30%CO_2) semblait limiter l'acidification et n'entrainait aucun gonflement visible des barquettes mais affectait considérablement la couleur (tendance jaunie-brunie) ; l'atmosphère sans oxygène mais enrichie en CO_2 (MAP2 :50%CO_2-50%N_2) pouvait réduire la perception d'odeurs mais accélérait la réduction du pH. (2) pour les saucisses de porc, l'utilisation de l'atmosphère MAP1 (resp. MAP2) pourrait faire diminuer (resp. augmenter) légèrement la perception d'odeurs mais n'avait peu d'influence sur l'acidification.

Au vu des différences observées dans les effets sur réponses étudiées sur les deux matrices et du caractère dynamique de l'altération ainsi que de la corrélation entre réponses, il a été décidé qu'il serait intéressant, pour la suite de la thèse, de décrire cette dynamique, caractérisée de manière focalisée sur une réponse d'intérêt et un seul type de viande, dans une optique de prévoir l'évolution de l'altération au cours du stockage.

.

Chapitre IV – Modélisation dynamique de l'acidification de saucisses de volaille

Préambule

Ce chapitre de thèse porte sur le développement d'un modèle dynamique pour décrire l'évolution du pH des saucisses de volaille sous l'influence de la formulation en lactate et du conditionnement sous atmosphères protectrices. Pour ce faire, un modèle statistique de structure hiérarchique a été bâti avec plusieurs paramètres décrivant les tendances d'évolution du pH pendant le stockage. Différentes sources potentielles de variabilité ont été prises en compte dans la construction du modèle. L'estimation des paramètres du modèle a été réalisé par une approche d'inférence bayésienne avec un apport d'information *a priori*. Les paramètres estimés ont permis de quantifier l'influence du lactate et de la MAP sur l'acidification. Le pH a été choisie comme réponse à étudier car (i) il est intimement lié au développement de différents groupes bactériens généralement considérés comme indicateurs microbiologique de l'altération telles que les bactéries lactiques, (ii) il s'agit d'une réponse simple, facilement mesurable avec une bonne précision et (iii) cette variable peut être renseignée par des experts ou par examen de la littérature en cas de besoin d'information *a priori* en approche bayésienne. Le modèle développé pour le pH pourrait être repris pour d'autres variables et également adapté à d'autres types de produits dans le cadre d'une étude sur l'altération.

Le travail présenté dans ce chapitre a fait l'objet d'une communication orale lors d'un Symposium Européen sur la sécurité des aliments, il est aussi en cours de valorisation via un article de recherche (soumis au journal « *International Journal of Food Microbiology* »). L'article est présenté dans la partie suivante.

* N.-D. Luong, L. Coroller, J.-M. Membré, S. Guillou and the REDLOSSES Consortium, 2019. Prediction of Spoilage Occurrence in French Fresh Poultry Sausages: Potential Role of Potassium Lactate and Modified Atmosphere Packaging. IAFP's European Symposium on Food Safety. Nantes, France, 2019.

https://iafp.confex.com/iafp/euro19/meetingapp.cgi/Paper/19325

Article soumis dans *International Journal of Food Microbiology (a)*

Acidification of fresh poultry sausages under various lactate and modified atmosphere conditions: a dynamical Bayesian modelling approach.

Ngoc-Du Martin Luong[1], Louis Coroller[2], Monique Zagorec[1], Nicolas Moriceau[1], Valérie Anthoine[1], Sandrine Guillou[1], Jeanne-Marie Membré[1].

[1]INRAE, Oniris, Secalim, Nantes, France

[2]LUBEM, Quimper, France

Corresponding author: jeanne-marie.membre@oniris-nantes.fr

Abstract

Within a study framework of microbiological spoilage of meat under different preservation strategies, the evolution of pH during storage represents an efficient way of monitoring spoilage since it can reflect the behaviour of several spoilage-associated microorganisms. This study aimed to model the dynamics of acidification of fresh poultry sausages made with three lactate formulations and packed under three modified atmospheres (MAP) from several industrial production batches. For this purpose, a dynamical hierarchical Bayesian approach was developed to model the two-phase trend in pH evolution (acidification-stabilisation) while taking into account several biological variability sources. The main results suggested that the initial lactate content could slow down notably acidification whatever the packaging. Besides, the 50%CO_2-50%N_2 MAP seemed to accelerate the acidification phase in comparison with the air packaging and the 70%O_2-30%CO_2 MAP. The stabilisation phase of pH value under all conditions was likely to take place before the 15th day of storage. Biological variability in initial pH of fresh sausages was estimated as standard deviation of 0.16 across production batches and uncertainties as 0.16 across measurements. The hierarchical structure of the experimental design provides an added-value for analysing data from food produced in batches at the industrial scale. The model developed here for pH could be replicated for other variables and also adapted to other types of products as part of a spoilage study.

Keywords Poultry sausage, Potassium Lactate, Modified Atmosphere Packaging, Predictive microbiology, Nonlinear Dynamical Model, Bayesian modelling

Highlights

- pH of turkey sausages was described by acidification-stabilisation evolution.
- The use of potassium lactate slowed down acidification in fresh turkey sausages.

- Quicker acidification under MAP:50%CO_2-50%N_2 than Air or 70%O_2-30%CO_2 packaging.
- pH of fresh turkey sausages stabilised likely before 15 days of cold storage.

Abbreviations

- ABC Approximate Bayesian Computation
- LAB Lactic Acid Bacteria
- MAP Modified Atmosphere Packaging
- MCMC Markov Chain Monte Carlo

Colour should be used for all figures in print

1 Introduction

Spoilage occurrence in fresh meat products characterised by changes in their sensory quality during storage is generally due to the development of microorganisms contaminating the products or chemical deterioration such as oxidation (Pellissery et al., 2019). The measurement of spoilage during storage is generally done by monitoring over time several physiochemical or microbiological spoilage responses (Raimondi et al., 2018; Shange et al., 2018). Among these responses, changes of pH in meat products have been widely carried out, since pH is well known as an intrinsic factor susceptible to influence the growth of several spoilage-associated microorganisms (Borch et al., 1996; Muermans et al., 1993; Pellissery et al., 2019). For instance, the development of Lactic Acid Bacteria (LAB), commonly considered as potential microbiological spoilage indicators, are intimately associated with pH evolution since these bacteria can behave differently under different pH conditions and also produce lactic acid by their fermentative activities leading to acidification of meat products (Deumier & Collignan, 2003; Mohsina et al., 2020). Analysing acidification of meat products during storage by describing pH evolution can be then a promising way of studying meat spoilage, since the measurement of pH can be easily and precisely conducted on meat in laboratory and can reflect the development of several microorganisms considered as spoilage indicators. In order to overcome meat spoilage caused by bacteria, several preservation strategies susceptible to inhibit microbial growth can be used by the industrial food manufacturers (Chouliara et al., 2007; Hasapidou & Savvaidis, 2011). One can cite for example the use of organic compounds such as lactate as food preservatives, storage under refrigerated conditions as well as under modified atmosphere packaging (MAP) generally containing mixed gas composition of O_2 and CO_2 (Farber, 1991; Genigeorgis, 1985; Linton et al., 2014; Mataragas et al., 2010). The effects of organic compounds or gases potentially used as preservation strategies have been widely described on the behaviour of microorganisms in food products, especially by modelling approaches applied to targeted specific microorganisms in the field of predictive microbiology for food safety (Coroller et al., 2012; Guillard et al., 2016; Malakar et al., 1999; McKellar & Lu, 2004). However, the application of such approaches within the study framework of spoilage in fresh meat products requires the identification of the microorganism(s) responsible of spoilage from the whole food microbiota, and time-consuming experiments for monitoring these microorganisms over time (McKellar & Lu, 2004). Moreover, modelling the dynamics of spoilage-associated responses can be difficult with sparse experimental data. In this context, Bayesian modelling approaches can be an interesting way to deal with this issue, since such methods can help fill data gaps by *a priori* information, possibly provided from experts or other preliminary works (Garthwaite et al., 2005; Gelman, 2006). Moreover, Bayesian approaches can also be useful for analyses of food products by deciphering influence

of potential sources of biological variability linked to industrial production (M.-L. Delignette-Muller et al., 2006).

The aim of this study was to develop a dynamical Bayesian model to describe acidification during chilled storage of meat products made in industrial scale under the influence of potassium lactate addition and modified atmosphere packaging as preservation strategies. The pH was chosen as a variable because (i) it is intimately linked to the development of different bacterial groups generally considered as microbiological indicators of spoilage such as lactic acid bacteria, (ii) it is a simple response, easily measurable with good precision and (iii) this variable can be informed by experts or by searching the literature if there is a need for *a priori* information in the Bayesian approach.

2 Material and methods

2.1 Products and pH measurement

The experimental data were extracted from a previous study published as a data paper (Poirier et al., 2020). The multivariate dataset included several measurements of spoilage of fresh sausages with different lactate formulations and conditioned under modified atmospheres during chilled storage. Only data associated with the monitoring of pH were used in the present study. Sausages were industrially produced in ten independent batches and under nine different "process conditions". These conditions corresponded to three initial concentrations of potassium lactate in sausage formulation combined with three modified atmosphere packaging. In practice, for each production batch, sausages were made firstly from the same lot of turkey meat in sufficient quantity for nine conditions, and the formulation and packaging steps were only conducted afterwards from these same sausages. For simplification purpose, we denoted in the present article: "Full dose", "Half dose" and "Zero lactate" for the three formulations of lactate (2%, 1% and 0% w/w in sausage samples, respectively); "Air", "MAP1" and "MAP2" for the three packaging (Air packaging, MAP1:70%O_2-30%CO_2 and MAP2:50%CO_2-50%N_2, respectively). pH values of the samples were monitored at four time points (day 2, 8, 15, 22 after production). The measurement of pH was carried out using a pH meter by direct insertion of the electrode into sausage samples (InLab Solids Pro, Mettler Toledo). For each process condition and each time point, the pH value was averaged from three measurement replicates on three different sausages. The data are plotted in Figure IV. 1.

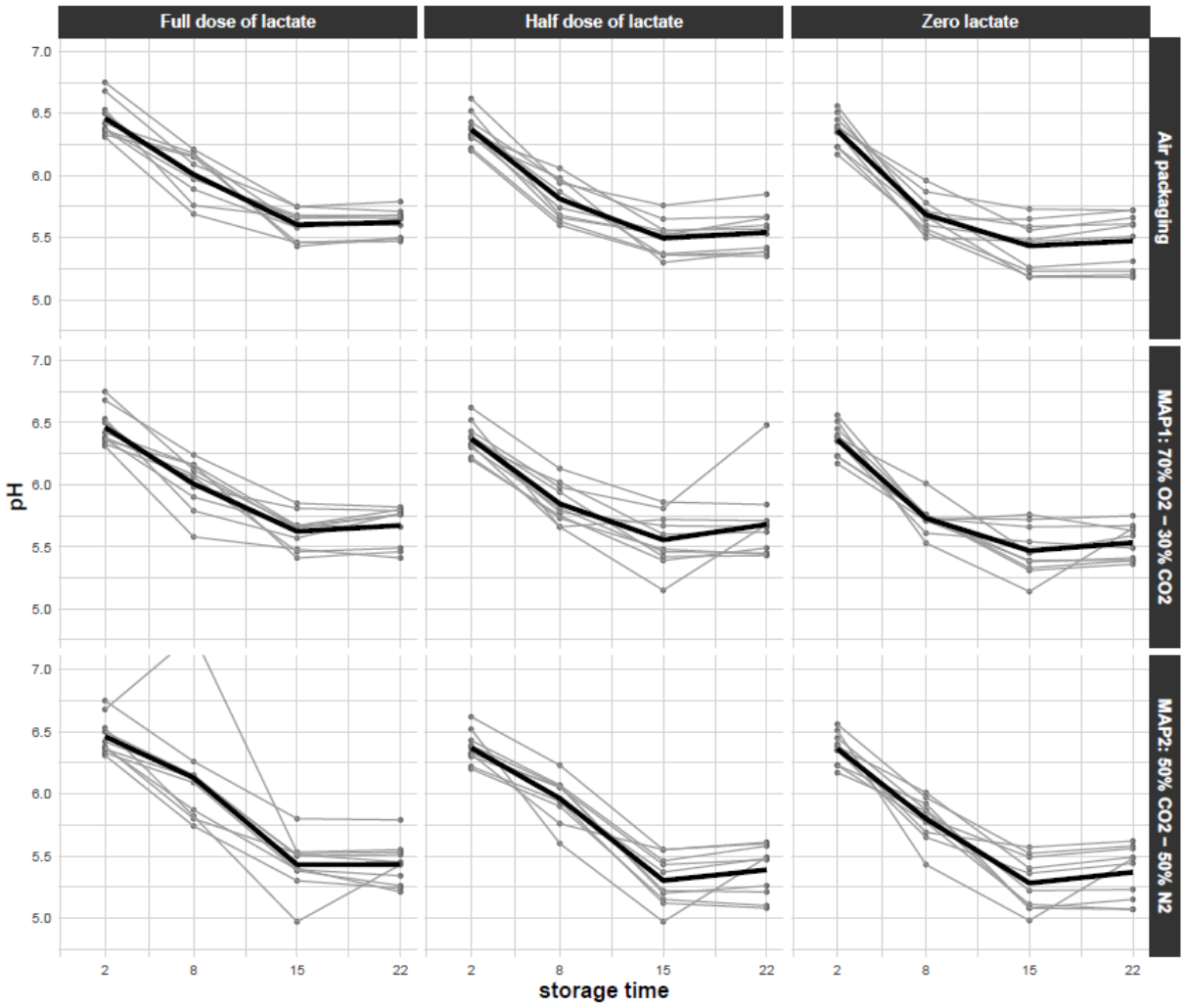


Figure IV. 1 pH value of sausage as a function of storage time (expressed in day) under different process conditions (lactate formulation and atmosphere packaging). For each condition, the points correspond to the average pH value obtained from three measurements on three different sausage samples (technical replicates), the different thin grey curves correspond to different production batches. The black thick curves correspond to the average curve across batches.

2.2 Dynamical hierarchical model

Firstly, it is worth noting that the pH curves were not all independent because the different formulations and packaging steps were conducted on the samples from the same batch after production. Secondly, samples under each process condition were monitored at different time points. Therefore, a hierarchically structured model was developed to take into account dependencies. This structure considered three successive levels: (i) production batch, (ii) process condition (lactate concentration and packaging) and (iii) sampling time point (Figure IV. 2).

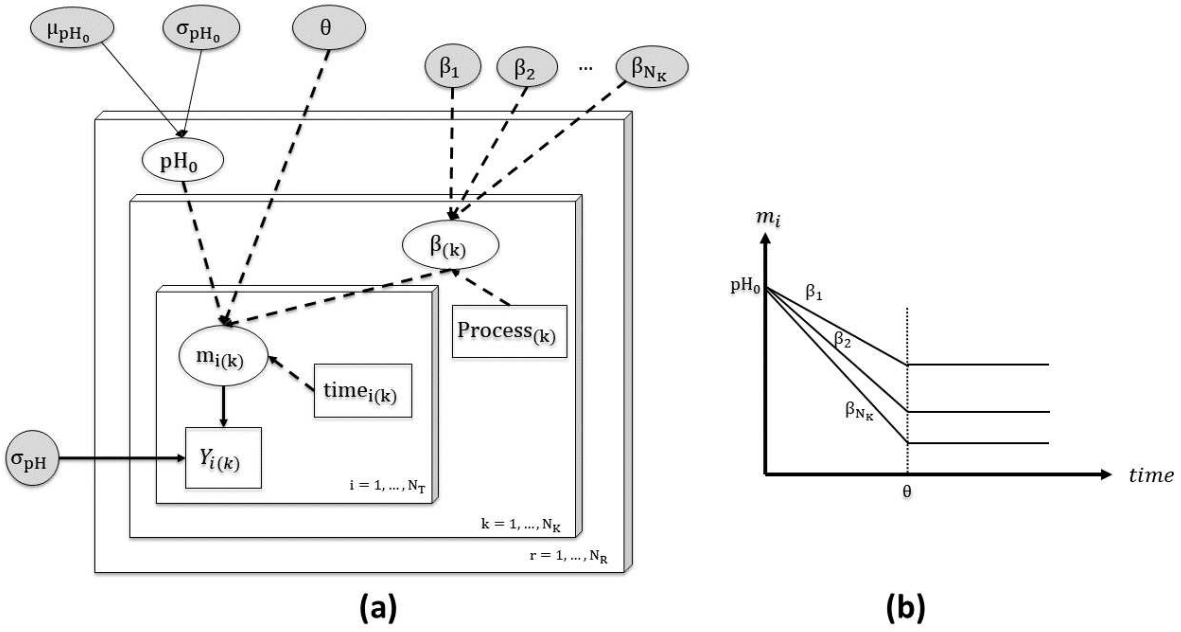


Figure IV. 2 (a) Directed Acyclic Graph (DAG) of the model. The rectangles represent data or covariates and the ellipses represent model parameters. Directed arrows represents relationships between parameters, covariates and data: dashed arrows correspond to deterministic functions and solid arrows correspond to stochastic relationships. (b) Schematic representation of the deterministic part describing evolution of the average pH with different acidification rates under different process conditions.

Let us denote by N_R, N_k, N_T the total number of production batches, the total number of process conditions and the total number of sampling time points, respectively $(N_R = 10, N_k = 9, N_T = 4)$. Within a production batch r $(r = 1, \dots, N_R)$, the initial pH value, denoted pH_0, was assumed to be fixed for a batch for all process conditions since sausage samples were formulated and packed from each batch. It was described by a normal distribution:

$$pH_0 \sim \mathcal{N}\left(\mu_{pH_0}, \sigma_{pH_0}\right), \qquad (Eq.IV.1)$$

where μ_{pH_0} and σ_{pH_0} corresponded to the mean and standard deviation of the pH observed on fresh sausages at the day of production. Starting from the same initial value pH_0, the acidification processes under different conditions were described by a two-phase model, based on patterns observed in data. For a given process condition $k(k = 1, \dots, N_k)$, the deterministic part of the model assumed that pH values linearly decreased with an acidification rate, denoted β_k, supposed to vary from one process condition to another, before reaching a stabilisation phase from the time point θ (expressed in day). In addition to the standard deviation σ_{pH_0} of the initial pH value across production batches, the stochastic part of the model also took into account uncertainties for measurement at each sampling time point by including the standard deviation parameter σ_{pH}.

Overall, for the process condition k, the pH of sausages at the time point $time_i (i = 1, \dots, N_T)$, denoted $Y_{i(k)}$, were modelled as follows:

$$Y_{i(k)} \sim \mathcal{N}\left(m_{i(k)}; \sigma_{pH}\right), \qquad (Eq.IV.2)$$

where σ_{pH} represents the random variations from the measurement at each time point and $m_{i(k)}$ the expected pH value at given process condition and time :

$$m_{i(k)} = \begin{cases} \beta_k . time_{i(k)} + pH_0, \ \forall\, time_i < \theta \text{ (acidification phase)} \\ \beta_k .\ \theta + pH_0, \forall time_i \geq \theta \text{ (stabilisation phase)} \end{cases}, \qquad (Eq.IV.3)$$

with β_k the acidification rate of samples under the condition k, pH_0 the initial pH value as described in Eq.IV.1, θ the stabilisation time. The description of all model parameters is gathered in Table IV. 1.

2.3 Parameters inference

A Bayesian inference approach was carried out to estimate all parameters involved in the acidification process. Bayesian methods can be interpreted as a way to update what is known about parameters or to newly infer them. Combining the observed data and prior information about model parameters, these methods provide posterior distributions of parameters.

Prior distributions were specified for each model parameter and given in Table IV. 1. Firstly, the prior for average initial value of pH μ_{pH_0} was defined using data extracted from the previous work of Lerasle et al. (2014). The authors provided mean and standard deviation of pH in fresh poultry sausages at 5.84 and 0.11, respectively. The prior of μ_{pH_0} was then described by a normal distribution $\mathcal{N}(5.84, 0.11)$. The acidification rates were assumed to vary from one process condition to another and described by uniform distribution in possible interval [-1, 0]. The time point θ at which the pH dynamics reach the stabilisation phase was arbitrarily fixed at 15 days regardless of the process condition due to the low number of sampling time points ($N_T = 4$). Finally, the standard deviation parameters σ_{pH_0} and σ_{pH} were described by half-normal distributions half-$\mathcal{N}(0,0.1)$.

In practice, it is generally difficult or impossible to determine the expression of posterior distributions from priors and the likelihood of the data, especially for models with many parameters. Simulation techniques such as Markov-Chain Monte-Carlo (MCMC) techniques could then be used to infer these distributions. In this work, Bayesian inference by MCMC was performed using the JAGS software linked to the *rjags* R package (Plummer, 2003). The R script is available upon request to the corresponding author. Three independent MCMC chains starting at different given values were run in parallel. After an initial burn-in period of 5 000 iterations, for each chain, the Bayesian algorithm simulated 60 000 iterations and sampled from these runs with a thinning interval of 6 iterations in order to reduce autocorrelations between consecutive iterations. The effective sample size per MCMC

chain was then 10 000. The total number of iterations for simulations and the thinning above was chosen using a method proposed by Raftery & Lewis (1992) which calculated a minimum required effective sample size from a preliminary short test run. The convergence of the estimation process was checked by diagnosing visually similarity between output value ranges of the three chains and by convergence criteria proposed by Gelman & Rubin (1992) and Geweke (1991). Samples from three chains were then combined and recorded as large samples of the full posterior joint distribution with a total of 30 000 sets of estimated parameters values. For each parameter, we considered (i) the estimate as the median value of the marginal posterior distribution and (ii) the 95% credible interval (95% CI) from the quantiles of 2.5% and 97.5% of this distribution. The full joint posterior distribution above was used afterwards to perform posterior to evaluate goodness-of-fit of the model. For that, with each set of parameter values obtained in joint distribution, we simulated pH values under process conditions and at different time points in order to evaluate the coverage of the experimental data by the credible intervals. These intervals were defined by the 2.5% and 97.5% quantiles of distribution. Finally, goodness-of-fit was also evaluated by plotting adjusted data (using point estimates of model parameters) versus observed data.

3 Results

3.1 Simulation and adjustment check

Autocorrelation between consecutive iterations of each chain were visually checked for each model parameter. Simulations with the chosen total number of MCMC iterations and thinning intervals suggested weak autocorrelations for all parameters; convergence of the three chains was successfully checked by plotting and according to the chosen convergence criteria (visual check plots not shown). The simulated chains could then be considered as a large sample of parameter posterior distributions. Correlations between the estimated parameters from the posterior distributions are shown in Figure IV. 3.

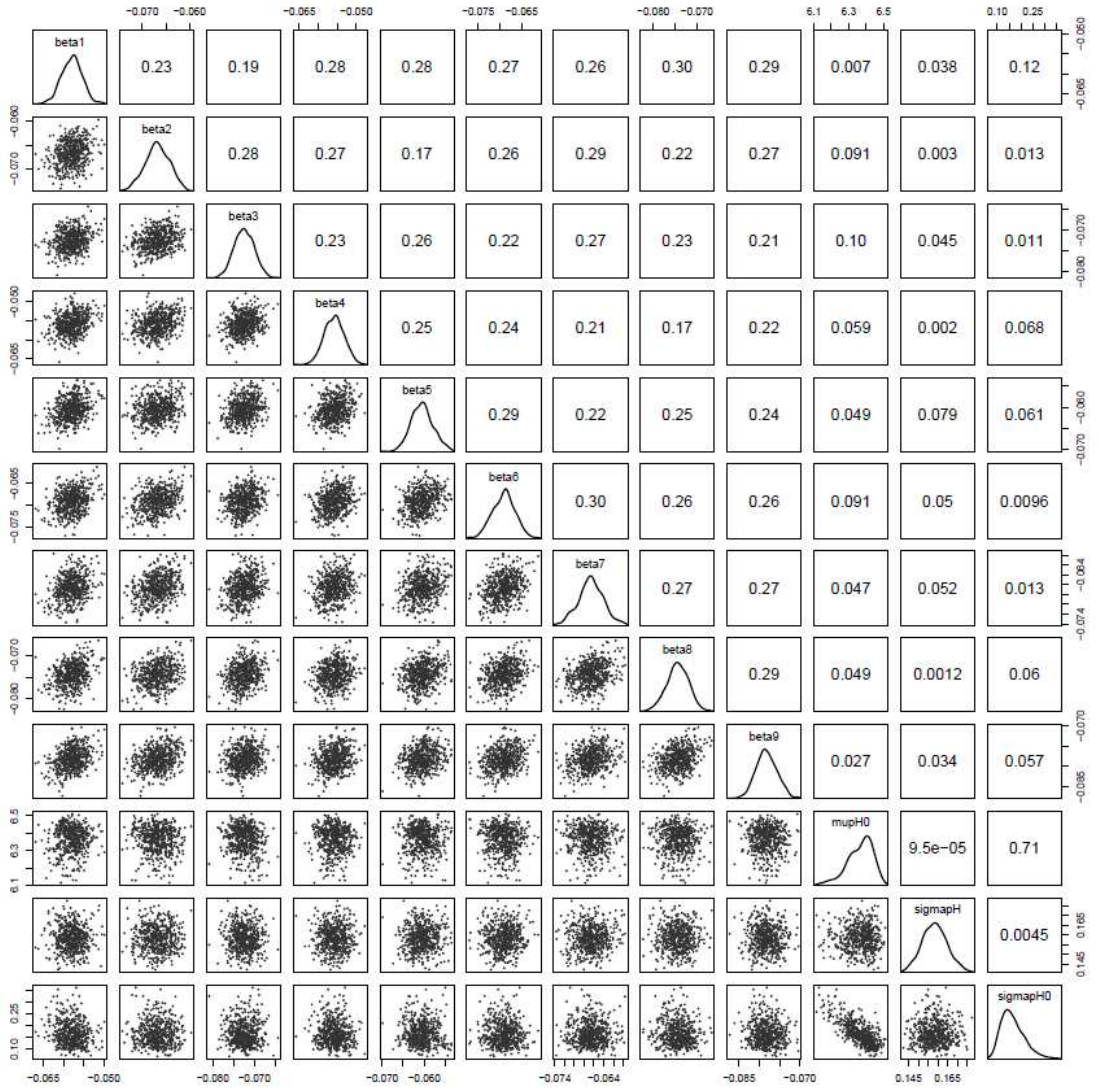


Figure IV. 3 Correlation between estimated model parameters. Lower graphs: scatter plot of 500 random sampled values from MCMC simulation output. Upper graph: absolute value of Spearman correlation coefficient. Diagonal graphs: posterior distributions.

The absolute value of these correlation coefficients was in most cases lower than 0.30, except for the correlation between μ_{pH_0} and σ_{pH_0} (0.71). These coefficients suggested then relatively weak dependence between model parameters. The goodness-of-fit plot showing comparison between adjusted and observed values as well as residuals diagnostic are shown in Figure IV. 4. In spite of a slight bias, these checks showed a reasonably fitted trend between observed and adjusted data and the residuals did not show any clear outlier.

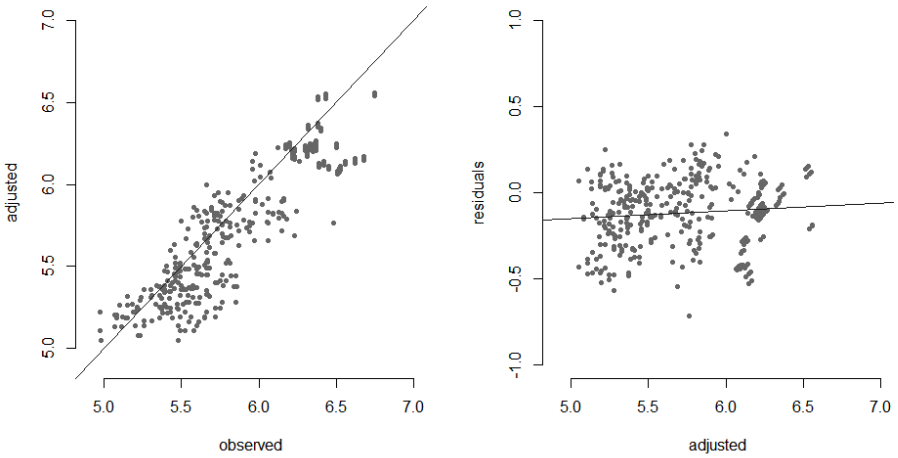


Figure IV. 4 Comparison of the observed experimental pH values with those adjusted by the model.

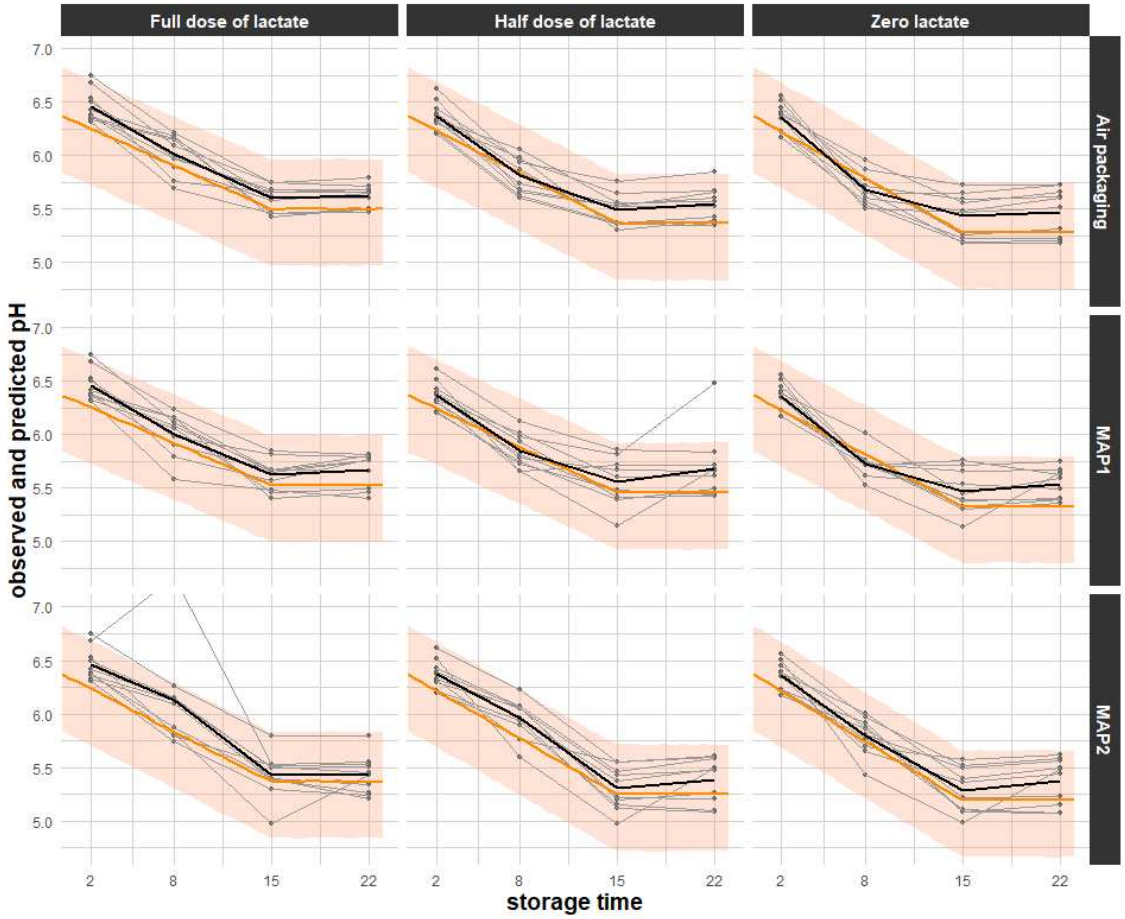


Figure IV. 5 Comparison between adjusted and observed data for samples under different process conditions. In observed data: each grey curve corresponds to one production; the black thick curve corresponds to the average one across production batches. In predicted data: the orange thick curve corresponds to point estimates, and the light orange band corresponds to the 95% prediction interval.

3.2 Acidification rates under influence of lactate and modified atmosphere

The parameter posterior distributions for all model parameters obtained from MCMC were plotted as density functions and the corresponding priors were superimposed (Figure IV. 5, Figure IV. 6). The estimates and confidence intervals of all model parameters are gathered in Table IV. 1. For all 12 model parameters, their unimodal and mostly symmetrical distributions suggested an accurate estimate.

The acidification rates of fresh turkey sausages β_i under different process conditions of lactate formulation and packaging were defined by a non-informative uniform distribution, since these parameters have not yet been introduced in a two-phase model in the literature to our knowledge. The experimental data were useful to accurately estimate these rates, since the posterior distributions of β_i were all much narrower than the chosen priors (Figure IV. 6). Although the distribution shapes of the latter were similar, their estimated value ranges varied greatly from one condition to another. pH values were shown to drop the most slowly in full-dose formulated sausages packed under MAP1:70%O_2-30%CO_2 with a rate at -0.056 pH unit per day and the most quickly in zero-dose lactate packed under MAP2:50%CO_2-50%N_2 with a rate at -0.078 pH unit per day. In other words, these results suggested a duration of approximately 5 days of difference between these two preservation strategies for a pH decrease of one unit. Overall, increasing the initial lactate content in the formulation enabled to slow down the drop of pH, whatever the used packaging types, as shown by the point estimates of the acidification rates in Table IV. 1. In particular, using the full dose in lactate formulation seemed to slow down notably the drop of pH in sausages in comparison with the Zero lactate formulation. Indeed, for each MAP, the estimated distributions of the acidification rates of these two formulations did not show any important overlap (Figure IV. 6). The duration it takes for the pH to drop by one unit was estimated at about 2-3 days between the full dose and zero lactate formulation.

MAP2:50%CO_2-50%N_2 seemed to accelerate the acidification phase in comparison with the Air packaging and MAP1:70%O_2-30%CO_2. Under the MAP2:50%CO_2-50N_2, the acidification rates were estimated at around -0.07 pH unit per day. As shown in Table IV. 1, under MAP1:70%O_2-30%CO_2, the half dose of lactate formulation gave acidification rates close to those of the full dose one, but not to those of the zero lactate one. In contrast, under MAP2:50%CO_2-50%N_2, the half dose gave acidification rates closer to those of the zero lactate formulation than to those of the full dose one. These patterns suggested then that the effects of lactate content on the acidification rate of sausages were not necessarily linear, and also showed possible interaction effects between lactate formulation and MAP on the acidification phase.

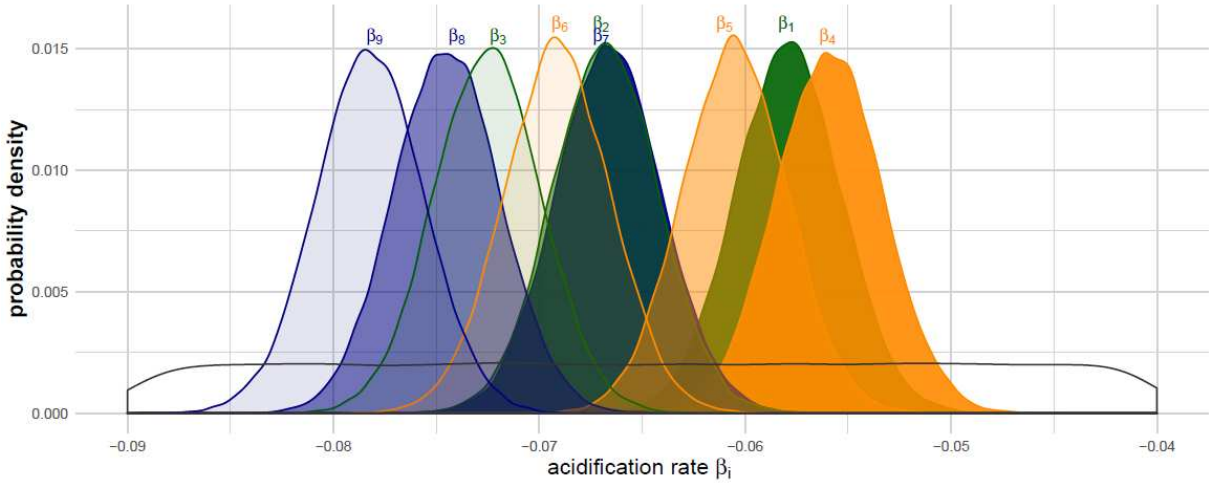


Figure IV. 6 Estimated distribution for acidification rates under different process conditions (lactate concentration and modified atmosphere. The different colours correspond to different packaging types and the transparencies are proportional to the lactate concentration. Acidification rates: β_1: Air packaging/Full dose (green-opaque); β_2 : Air packaging/Half dose (green/semi-transparent); β_3 : Air packaging/Zero dose (green/transparent); β_4: MAP1:70%O_2-30%CO_2/Full dose (orange/opaque), β_5: MAP1:70%O_2-30%CO_2/Half dose (orange/semi-transparent); β_6 : MAP1:70%O_2-30%CO_2/Zero lactate (orange/transparent); β_7 : MAP2:50%CO_2-50%N_2/Full dose (blue/opaque); β_8: MAP2:50%CO_2-50%N_2/Half dose (blue/semi-transparent): β_9: MAP2:50%CO_2-50%N_2/Zero lactate (blue/ transparent). The black curve corresponds to the defined prior distributions for all acidification rate parameters.

Table IV. 1 Parameters of the model: symbol, definition, unit, prior and posterior distribution. N stands for the normal distribution, half-N stands for the half-normal distribution, U stands for the uniform distribution. For posterior distributions: the point estimate of each parameter corresponds to the median value of its marginal posterior distribution, the 95% credible interval is defined by the 2.5% and 97.5% quantiles of the marginal distribution.

Symbol	Definition	Unit	Prior distribution	Posterior distribution: point estimate [95% CI]	
μ_{pH_0}	Mean of the initial pH value across production batches	-	$\mathcal{N}(5.84; 0.11)$[1]	6.37	[6.18 ; 6.48]
σ_{pH_0}	Standard deviation of the initial pH across production batches	-	half-$\mathcal{N}(0; 0.1)$[2]	0.16	[0.09 ; 0.29]
θ	Time point at which the pH reaches the stabilisation phase	day	$\theta = 15$ (fixed)	not estimated	
β_1	Acidification rate (Air packaging – Full dose)	day^{-1}	$\mathcal{U}(-1; 0)$[2]	-0.058	[-0.063, -0.053]
β_2	Acidification rate (Air packaging – Half dose)	day^{-1}	$\mathcal{U}(-1; 0)$[2]	-0.067	[-0.072, -0.062]
β_3	Acidification rate (Air packaging – Zero lactate)	day^{-1}	$\mathcal{U}(-1; 0)$[2]	-0.072	[-0.078, -0.067]
β_4	Acidification rate (MAP1:70%O_2-30%CO_2 – Full dose)	day^{-1}	$\mathcal{U}(-1; 0)$[2]	-0.056	[-0.061, - 0.051]
β_5	Acidification rate (MAP1:70%O_2-30%CO_2 – Half dose)	day^{-1}	$\mathcal{U}(-1; 0)$[2]	-0.061	[-0.066, -0.055]
β_6	Acidification rate (MAP1:70%O_2-30%CO_2 – Zero lactate)	day^{-1}	$\mathcal{U}(-1; 0)$[2]	-0.069	[-0.074, -0.064]
β_7	Acidification rate (MAP2:50%CO_2-50%N_2 – Full dose)	day^{-1}	$\mathcal{U}(-1; 0)$[2]	-0.067	[-0.072 ; -0.062]
β_8	Acidification rate (MAP2:50%CO_2-50%N_2 – Half dose)	day^{-1}	$\mathcal{U}(-1; 0)$[2]	-0.074	[-0.079 ; -0.069]
β_9	Acidification rate (MAP2:50%CO_2-50%N_2 – Zero lactate)	day^{-1}	$\mathcal{U}(-1; 0)$[2]	-0.078	[-0.083 ; -0.073]
σ_{pH}	Standard deviation of the pH value across measurement	-	half-$\mathcal{N}(0; 0.1)$[2]	0.16	[0.15 ; 0.17]

[1]Lerasle et al. (2014), [2] non-informative prior.

3.3 Biological variability

The average initial value of pH across batch production μ_{pH} was estimated at 6.37 at day 0 (median value), with a 95% credible interval from 6.18 to 6.48 (Table IV. 1). The estimated distribution of initial pH was clearly higher than the prior one previously defined as normal distribution with a mean of 5.84. The standard deviation of the initial pH σ_{pH_0} describing biological variability across production batches was estimated at 0.16. The parameter σ_{pH} describing random variations from the measurement at each time point and each condition was also estimated at 0.16. The estimated distributions of σ_{pH} and σ_{pH_0} were more symmetrical around the point estimates of 0.16, unlike the prior defined previously as asymmetrical distribution right-centred at 0. The posterior distributions of these parameters were much narrower than the prior ones, suggesting reasonably precise estimation of the variability thank to our experimental data collected from several batches. However, for these parameters, the posterior distributions posterior shifted to the right, revealing that variabilities and uncertainties in pH were more important than initially expected.

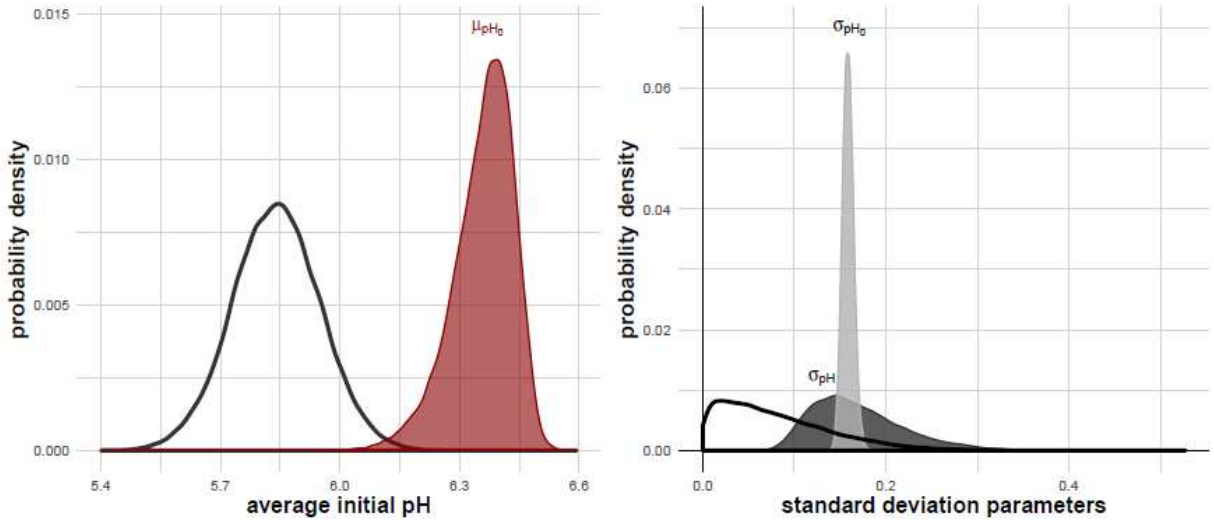


Figure IV. 7 (Left graph) Distribution of initial pH value μ_{pH_0} (prior: black curve, posterior: red curve). (Right graph) Distribution of standard deviation parameters for initial pH value σ_{pH_0} and for pH value at each sampling time point σ_{pH} (prior: black curve, posterior: dark grey and grey curves).

4 Discussion

Our results showed firstly that the use of lactate in the formulation seemed to slow down the acidification process in sausages under all types of packaging. These results were expected because one possible action of lactate, commonly used in meat formulation to limit microbial spoilage, is to acidify the interior of the cells by releasing toxic acid anions and protons (Maas et al., 1989). This mechanism could then limit the growth of some aerobic mesophilic bacteria as well as microorganisms using lactate such as lactobacilli, as previously

reported by Tovunac et al. (2011) and Cegielska-Radziejewska & Pikul (2004). The latter, inhibited by lactate addition, are known to produce acids such as lactic, acetic and formic acids (more or less depending on their taxonomy according to a study of Borch & Agerhem (1992). This could then explain the ability of lactate to slow down acidification.

The gas composition used in MAP2 (50%CO_2-50%N_2) seemed to accelerate the acidification phase in comparison with the Air packaging and MAP1:70%O_2-30%CO_2, probably due to its initial high content of CO_2. CO_2 is commonly used in modified atmosphere due to its antimicrobial activity (Al-Nehlawi et al., 2014). One possible mechanism of CO_2 to inhibit microorganism is the formation of carbonic acids (H_2CO_3) since CO_2 is easily absorbed in the meat product (Devlieghere et al., 2000). Hence, the quick acidification under such MAP enriched in CO_2 could be explained by the decrease of pH as a consequence of the formed carbonic acids (Tan & Gill, 1982).

The value of initial pH of poultry sausages estimated in our study at 6.37 is highly in accordance with other values obtained in the literature. For instance, Cegielska-Radziejewska & Pikul, (2004) observed pH value of 6.30, 6.33 and 6.36 in uncooked poultry sausages before packaging with three lactate formulations of 0%, 1% and 2%, respectively. The difference observed between our estimates and the prior data of Lerasle et al., (2014) could be explained by the difference in the composition of the sausages, such as type of poultry meat (chicken or turkey) and their respective percentage. This difference has been reported for example by Saucier, Gendron, & Gariépy (2000) who observed a higher pH in chicken meat (around 6.18) than in turkey (around 5.95). Concerning random biological variability in initial pH across production batches, this parameter estimated at 0.16 was coherent with an estimate at 0.12 from our previous work using a mixed-effect linear model approach (Luong et al., 2020b).

In this study, the evolution of pH value was modelled empirically as a two-phase model regarding patterns observed in data, including a first linear decrease before stabilisation. The two phase trend seemed to provide an accurate fit despite some outlier observed curves probably due to technical errors during experiments (Figure IV. 1). The linear decrease of pH in poultry meat products has been reported in the literature. For instance, Tovunac et al. (2011) suggested a linear decrease of pH in chicken frankfurters under different packaging types by adjusting decreasing linear models on experimental data. The stabilisation phase has been described in the literature in reason of buffer effect in food products such as meat (Musavu Ndob & Lebert, 2018); Ellouze et al. (2008) modelled buffer effect in pH evolution linked with the total production of lactic acid by bacteria using logistic-based sigmoidal models (Whiting, 1993). In our study, the major difficulty remained in the low number of sampling time points which could be inappropriate for fitting such kind of models, hence our choice of two linear phases. Moreover, the adjusted value of pH from the stabilisation time

seemed to be lower than in observed data (Figure IV. 5), suggesting that the decreasing phase might have probably stopped before the 15th day. This time was arbitrarily chosen as θ parameter value; it was not estimated but fixed due to the limitation of kinetic data points (only four sampling time points). Nevertheless, thanks to the Bayesian approach, with informative prior distributions, the model could be adjusted to the dataset. That is definitively an added value of this modelling technique.

The second added value lies in the possibility of building a hierarchical structure and communicating on it through acyclic graph (Figure IV. 2) easily. The hierarchical structure enabled to overcome the problem of independence in the dataset associated with successive steps of meat production in industrial scale. Besides, the Bayesian modelling approach enabled to estimate precisely random biological variabilities from different production batches. Hierarchical Bayesian approaches have been already applied in food modelling, especially for estimating separately biological variability and uncertainty on parameters (Crépet et al., 2009; Dagnas et al., 2014; M.-L. Delignette-Muller et al., 2006; Pouillot & Delignette-Muller, 2010). Moreover, MCMC simulations for Bayesian modelling can provide as output full estimated distributions of parameters which could be useful for model validation on external experimental data. Nevertheless, one possible limitation of such MCMC-based approaches could be sometime associated with important computation run times as well as with models which cannot be formalised by explicit functions/equations, and thus require other alternative Bayesian approaches such as the method ABC (Approximate Bayesian Computation) proposed by Beaumont et al., (2002) and Van der Vaart et al. (2015).

In conclusion, the two-phase (acidification-stabilisation) model described reasonably well the pH evolution of fresh poultry sausages under the influence of lactate formulation and gas composition in MAP, despite the low number of monitoring time points. The identified trends in the influence of these preservation strategies on acidification were coherent with the literature, and the problems of independence in dataset and biological variability were taken into account. For the reasons above, we are convinced that the developed hierarchical Bayesian modelling approach for acidification could contribute to the first step to support further studies in an empirical modelling framework of meat spoilage, for example by adapting for other spoilage-related responses or other meat matrices.

Funding

This work was funded by the French Research National Agency (ANR) REDLOSSES project (ANR-16-CE21-0006).

Acknowledgements

The authors are grateful to collaborators of the REDLOSSES consortium for their helpful comments and expertise for the experiment design: Émilie Cauchie, Stéphane Chaillou, Marie-Christine Champomier-Vergès, Marie-Hélène Desmonts, Carole Feurer, Rodérick Gohier, Erwann Hamon, Emmanuel Jaffrès, Sabine Jeuge and Dalal Werner. The authors also thank Marie-Laure Delignette-Muller for her helpful advices for the conception of Bayesian hierarchical models.

Conflict of interest: none

Authors contribution

Conceptualization: N.-D.M. Luong; Data curation: N.-D.M. Luong, N. Moriceau, V. Anthoine, S. Guillou, M. Zagorec; Formal analysis: N.-D.M. Luong; Funding acquisition: M. Zagorec; Investigation; Methodology: N.-D.M. Luong, J.-M. Membré; Project administration: S. Guillou, M. Zagorec; Software: N.-D.M. Luong; Supervision: S. Guillou, L. Coroller, J.-M. Membré; Visualisation: N.-D.M. Luong; Writing – original draft: N.-D.M. Luong; Writing – review and editing: S. Guillou, L. Coroller, M. Zagorec, J.-M. Membré.

Conclusion du chapitre

Ce chapitre de thèse consistait en une première tentative de proposition d'un modèle prédictif pour formaliser l'évolution d'une réponse d'altération (pH) des saucisses de volailles pendant le stockage. L'évolution du pH a été modélisée par un modèle en deux phases successives, une phase d'acidification suivie par une stabilisation. Le modèle a permis de décrire le pH en fonction du temps en intégrant différents paramètres pour caractériser l'effet du lactate et du conditionnement et des sources de variabilité. L'estimation de ces paramètres a été réalisée par une approche d'inférence bayésienne. Les résultats obtenus à partir des paramètres estimés ont été confrontées aux données expérimentales observées. Cette confrontation a globalement montré un ajustement satisfaisant du modèle. En revanche, le caractère prédictif du modèle n'a malheureusement pas pu être évalué faute de données externes.

L'utilisation du lactate de potassium dans la formulation des saucisses de volaille permet de réduire la vitesse d'acidification, quel que soit le type d'atmosphère protectrice utilisé pour le conditionnement. Il a été estimé également que l'acidification était la plus lente avec un conditionnement sous MAP 70%O_2-30%CO_2. En revanche, l'acidification était la plus rapide avec un conditionnement sous MAP 50%CO_2-50%N_2, probablement dû à la formation de de dioxyde de carbone dont l'absorption dans le produit se fait naturellement. Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus dans le chapitre III qui considérait seulement l'influence du lactate et de l'atmosphère protectrice sur le pH comme des facteurs qualitatifs via une analyse de régression linéaire à effet-mixte. La variation de pH initial associée à la variabilité entre lots de production et la variation aléatoire lors des mesures au cours du temps, toutes les deux estimées à 0.16 en écart-type, représentaient les sources potentielles de variabilité inclues dans le modèle.

L'évolution en deux phases du pH proposée dans ce chapitre était globalement appropriée pour décrire l'acidification sous l'effet du lactate combiné avec le conditionnement sous MAP. La comparaison de ces effets a été facilitée notamment grâce à l'inférence bayésienne qui a fourni une estimation ponctuelle des paramètres et également leur intervalle de crédibilité à 95%. Un autre avantage de l'approche bayésienne était la possibilité de garder ces estimations issues de simulation en vue d'ajuster le modèle à d'autres jeux de données pour validation externe. Enfin, l'estimation des paramètres a été facilitée par la construction de distribution *a priori* basée sur des données existantes telles que le pH de saucisses fraîches, en sortie d'usine ou données dans études préalables indépendantes.

Cependant, cette étape de modélisation a révélé également quelques limites, notamment liées au plan d'expérience considéré. En effet, la structure hiérarchique du plan d'expériences a nécessité un modèle complexe avec trois niveaux successifs, ce qui a donné un nombre

important de paramètres à estimer par rapport aux nombres de données dans ces niveaux. Par ailleurs, pour chaque modalité de procédé, seulement quatre temps d'échantillonnage ont été réalisés, ce qui était relativement peu pour un modèle dynamique à deux phases à ajuster. Pour cette raison, nous avons choisi de fixer le paramètre du temps de stabilisation du pH afin d'améliorer l'estimation des vitesses d'acidification. La qualité globale d'ajustement s'en est ressenti : un léger biais a été observé.

Comme mentionné au début du chapitre, l'idée de cette partie du travail était de commencer par la prédiction d'une réponse d'altération au cours du temps (en l'occurrence le pH), avant d'intégrer si possibles d'autres réponses dans un modèle dynamique global. Cependant, les résultats obtenus dans cette première tentative de prédiction ont malheureusement identifié plusieurs limites notamment liées au problème de « sur-paramétrage » du modèle. Par conséquent, l'intégration de différentes réponses dans un modèle unique induirait encore davantage de difficultés dans l'ajustement du modèle, quelle que soit l'approche d'estimation de paramètres utilisée. Le grand nombre de paramètres à estimer est dû jusqu'ici au fait que les conditions de procédé utilisées initialement (lactate et MAP) étaient considérées dans le modèle comme des facteurs qualitatifs (neuf paramètres correspondant à neuf conditions, par réponse d'altération étudiée). Par ailleurs, les paramètres caractérisant les sources de variabilité biologique surtout au temps initial seraient également nécessaires dans le modèle. Pour ces raisons, pour mieux appréhender la dynamique de l'altération tout en réduisant le nombre de paramètres dans la prédiction, il a été décidé de considérer les sources de variabilité et les modalités lactate/MAP initiales comme un ensemble de conditions initiales, en vue d'évaluer la répercussion de ces dernières sur la dynamique de l'altération subséquente.

Chapitre V – Etude du lien entre les conditions initiales et la dynamique de l'altération

1 Introduction

Lors des chapitres précédents, il a été montré que le temps de stockage jouait un rôle majeur dans l'altération des saucisses, suggérant un caractère dynamique de l'altération. Décrit par une phase d'analyse exploratoire présentée dans le Chapitre III, le facteur « temps » a un effet significatif sur toutes les réponses d'altération considérées dans ce travail. Ces réponses incluaient notamment la perception d'une odeur d'altération par un panel sensoriel, l'acidification des saucisses caractérisée par la mesure du pH ou encore le développement des bactéries aérobies mésophiles et des bactéries lactiques. Par conséquent, il est raisonnable de décrire les réponses d'altération comme des dynamiques, formalisées par des modèles évoluant en fonction du temps. Il a été observé également que l'évolution des réponses considérées présentait des différences substantielles en fonction de la matrice, saucisses de porc ou saucisses de volaille. Au vu de ces différences, la suite de l'étude s'est focalisée arbitrairement sur les saucisses de volaille pour lesquelles nous avons choisi de décrire l'évolution d'une réponse simple, le pH, via la construction d'un modèle dynamique avec une approche bayésienne (Chapitre IV). Ce dernier constituait notre première tentative de description de l'altération au cours du temps. Suite à l'ajustement de ce modèle dynamique aux données expérimentales, il a été observé que la variabilité biologique au temps initial représentait une importante part de la variabilité dans l'évolution du pH tout au long du stockage.

Cette variabilité initiale est potentiellement caractérisée par les conditions initiales liées aux caractéristiques propres des produits comme le pH, aux modalités de conservation initiales comme les proportions des gaz utilisés dans le conditionnement ou encore à la qualité microbiologique des produits. Concernant la qualité microbiologique, outre la charge bactérienne mesurée par dénombrement, la contamination initiale des saucisses par les bactéries lors de la production peut différer selon les groupes, genres ou espèces de bactéries présentes. Par conséquent, il était nécessaire de prendre en compte la composition du microbiote présent sur le produit pour la suite de notre étude afin de bâtir un profil plus complet permettant d'apprécier l'influence des conditions initiales. De plus, d'un point de vue pratique en industrie, l'évaluation de l'influence des conditions initiales sur l'évolution de l'altération pendant le stockage peut être intéressant dans une optique de bâtir un outil opérationnel de prévision et d'aide à la décision pour les industriels par exemple dans les possibilités d'aiguillage des produits dans la chaîne de production, de transformation ou de distribution.

L'objectif de cette partie du travail de thèse présenté dans ce chapitre était donc d'évaluer, pour les saucisses de volaille, la possibilité d'expliquer la dynamique de l'altération par les conditions initiales avec plusieurs stratégies d'analyse. La dynamique de l'altération a été caractérisée arbitrairement par l'évolution de la perception d'une odeur d'altération. Les

conditions initiales regroupaient à la fois les réponses physicochimiques et/ou microbiologiques couramment utilisées dans la mesure de l'altération et la composition du microbiote présent sur le produit.

2 Matériels et méthodes

2.1 Indicateurs d'altération et variables explicatives

2.1.1 Données utilisées et réponse d'altération à expliquer

Dans cette partie, nous avons considéré les données concernant les saucisses de volaille, formulées avec deux concentrations initiales de lactate de potassium (la « dose complète » actuellement utilisée par les industriels 20g/kg et la formulation « sans lactate » 0g/kg) et ensuite conditionnées sous trois atmosphères différentes (« Air packaging », « MAP1 : 70%O_2–30%CO_2 » et « MAP2 : 50%CO_2-50%N_2 »). Ces saucisses étaient issues de dix lots de production différents, cependant, suite aux diagnostics de résidus précédemment réalisés pour l'analyse de régression linéaire à effet-mixte présentée au chapitre III, un lot a été écarté du jeu de données. Par conséquent, la combinaison de ces modalités Lactate x Conditionnement x Lot constituait un ensemble de 54 conditions initiales pour lesquelles la dynamique de l'altération était à évaluer.

Après le conditionnement, ces produits ont été stockés à température réfrigérée, à 4°C pendant les 5 premiers jours après la production puis à 8°C jusqu'au 22ème jour selon le protocole de la norme AFNOR NF V01-003 pour l'établissement des durées de vie de produit. Dans cette partie, la réponse considérée pour décrire la dynamique d'altération était l'évolution de la perception de l'odeur par le panel d'analyse sensorielle. Cette perception d'odeur était définie par un score continu de 0 à 1 correspondant à la proportion du panel qui perçoit une odeur d'altération, appelé « score sensoriel ». Ce dernier a été évalué par les juges, lors des séances dites de « sniffing », qui comparaient le produit par rapport à un échantillon de saucisse fraîche témoin. Pour ce faire, pour chaque échantillon considéré, chaque juge le comparait au témoin et donnait une valeur de 0 (ou 1) s'il percevait une quelconque odeur d'altération. La moyenne sur l'ensemble des juges pour chaque échantillon lui donnait donc un score continu (de 0 à 1) attribué à celui-ci. Dans ce chapitre, pour un échantillon issu d'une condition initiale considérée, le score sensoriel obtenu au temps t est noté $Y_s(t)$. Ces évaluations de « sniffing » ont été réalisées pour quatre temps d'échantillonnage, aux jours 2 (jour de conditionnement), 8, 15 et 22 après la production. L'ensemble de ces données, considéré pour décrire la dynamique de l'altération à expliquer par la suite, est présenté sur la Figure V. 1.

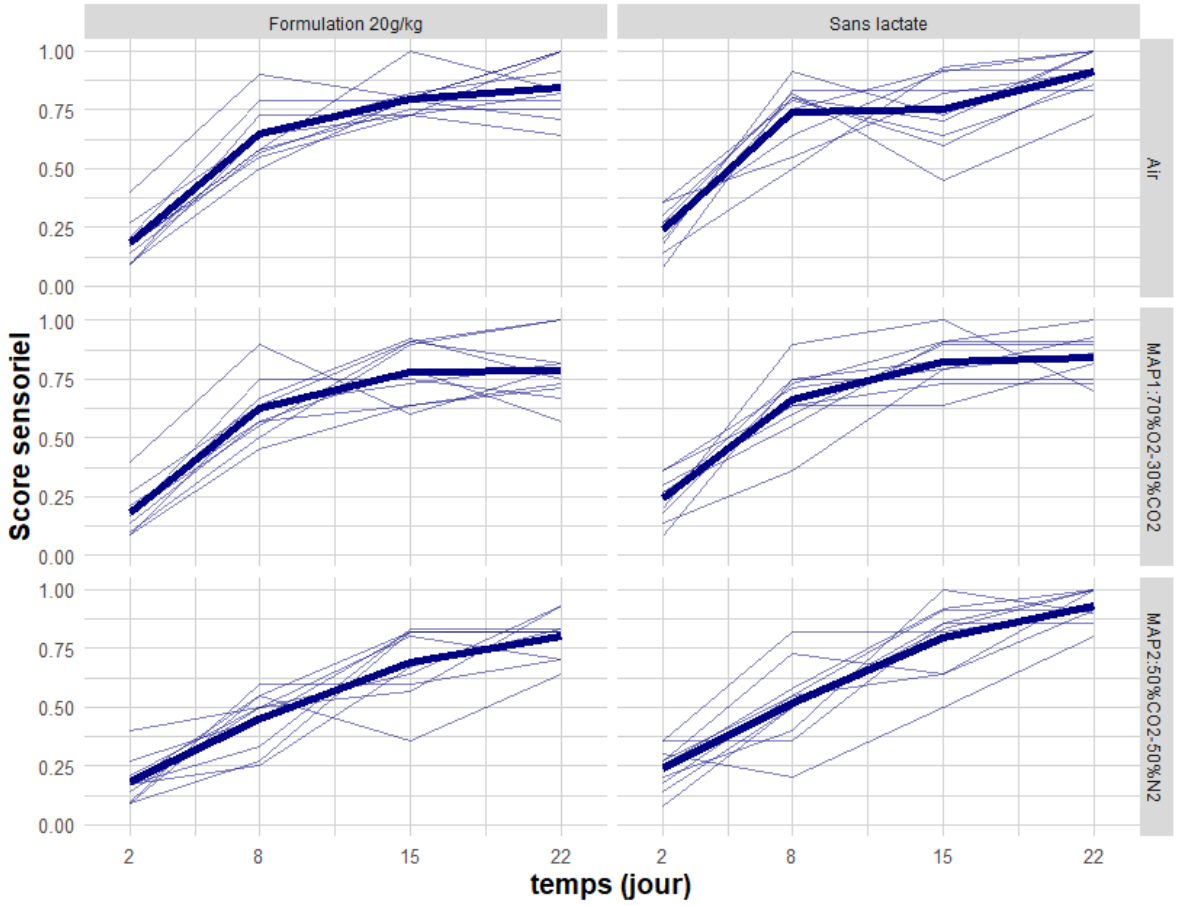


Figure V. 1 Score sensoriel des saucisses de volaille pour différents lots, deux formulations en lactate et trois mélanges gazeux utilisés pour le conditionnement. Les courbes tracées en trait fin correspondent aux différents lots et la courbe moyenne entre les lots est tracée en trait épais.

2.1.2 Prédicteurs potentiels au temps initial

L'idée de cette analyse consistait à établir un lien entre la dynamique de l'altération et les conditions initiales, dans une optique d'évaluer la possibilité de prédire cette dynamique uniquement par les conditions initiales. Comme décrit précédemment, 54 conditions initiales différentes ont été considérées pour les produits. Ces conditions étaient caractérisées par la mesure de plusieurs variables physicochimiques et microbiologiques au jour du conditionnement considéré comme temps initial. Ces variables représentaient donc des prédicteurs potentiels de la dynamique d'altération. Ils ont été regroupés en deux classes que l'on appellera pour la suite de ce chapitre les « mesures courantes » et le « microbiote ».

Pour les « mesures courantes » au temps initial, nous avons considéré neuf prédicteurs potentiels. Il s'agissait de la concentration initiale de lactate (soit 0 et 20g/kg), la mesure des concentrations initiales de gaz (O_2 et CO_2) dans les barquettes, la valeur initiale du pH, la mesure initiale de la couleur avec les indices CIE L^* a^* b^*, et enfin le dénombrement total

des bactéries aérobies mésophiles (TAMB) et des bactéries lactiques (LAB) sur les milieux de culture PCA et MRS, respectivement. Ces variables sont détaillées dans la Table V. 1.

En ce qui concerne le « microbiote » au temps initial, les prédicteurs potentiels considérés correspondaient à des données métagénétiques caractérisant la composition des espèces bactériennes présentes sur le produit. Il s'agissait de 150 variables quantifiées en nombres de lectures de séquences ou « reads » (issues du séquençage de séquences du gène *gyrB*) associées à 150 unités taxonomiques (OTUs), agrégées au préalable à l'échelle de l'espèce dans les travaux de Poirier et al. (2020). Ce nombre de reads pouvant représenter un facteur d'échelle important (valeurs allant de 0 à plus de 60 000), une normalisation par transformation $\log_{10}$ des nombres de reads a été effectuée.

Pour certaines variables des deux classes décrites ci-dessus, certaines données étaient manquantes notamment pour des raisons expérimentales. Un traitement préliminaire de données manquantes a été réalisé et détaillé en annexe à la fin du chapitre. Les données traitées ont ensuite été prises en compte comme prédicteurs potentiels de la dynamique de l'altération selon différentes stratégies décrites dans la partie suivante.

2.2 Modèles développés

2.2.1 Détermination d'indicateurs de la dynamique d'altération : l'estimation des paramètres d'un modèle dynamique

Un modèle dynamique simple a été développé afin de décrire l'évolution du score sensoriel pendant le stockage. La variable considérée qui évolue en fonction du temps, notée $y_s(t)$ $(0 \leq p \leq 1)$, correspond à la proportion du panel percevant une odeur d'altération, comme décrit précédemment. La valeur de y_s était supposée nulle au temps initial car le produit était considéré comme non altéré. Ensuite, les courbes moyennes du score sensoriel observées dans les données ont la forme d'une asymptote avec une augmentation rapide de la perception de l'odeur au cours du temps (Figure V. 1) avant d'atteindre une valeur seuil maximale. Ce seuil est de 1 car l'odeur d'altération est supposée être perçue par l'ensemble du panel au-delà de la fin du stockage. L'évolution de la perception de l'odeur a donc été formalisée par un modèle exponentiel comme suit :

$$y_s(t) = 1 - e^{-\kappa.t}, \qquad (Eq.V.1)$$

dans lequel le paramètre κ (exprimé en jour^{-1}) correspond au taux d'accroissement de la courbe exponentielle. Ce paramètre représente donc un indicateur de la dynamique que l'on appelle une « vitesse d'altération ». Ce modèle simple, à un paramètre, a été choisi pour éviter tout problème d'ajustement avec seulement quatre temps de suivi. Afin de faciliter l'interprétation de la dynamique de l'altération basée notamment sur la notion de temps, nous avons considéré un deuxième indicateur, noté t_{50}, via la transformation suivante :

$$t_{50} = \frac{\ln(2)}{\kappa}, \qquad (Eq.V.2)$$

où t_{50} (exprimé en jour), appelé « demi-altération », correspond au temps où une proportion arbitraire de 50% du panel perçoit une odeur d'altération dans le produit. Le modèle dynamique développé est schématisé dans la Figure V. 2.

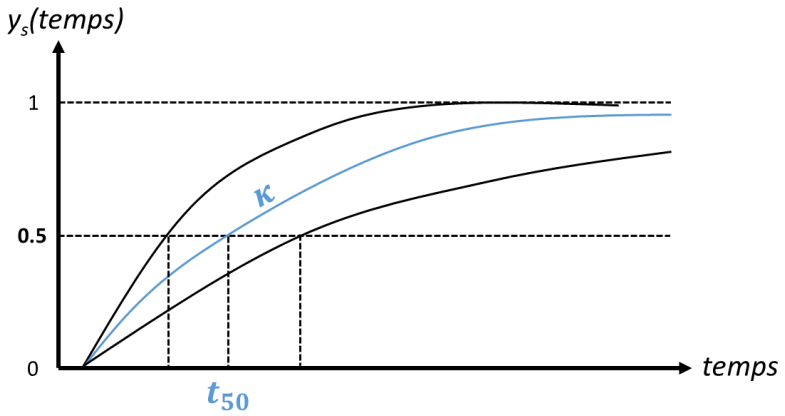


Figure V. 2 Représentation schématique du modèle dynamique pour décrire l'évolution du score sensoriel issue de différentes conditions initiales. Chaque courbe correspond à une condition initiale. Le paramètre κ représente la vitesse d'altération correspondant à la courbure du modèle dynamique. Le paramètre t_{50} représente le paramètre de demi-altération (temps suivi où le score sensoriel est égal à 0.5).

Le modèle dynamique décrit a été ensuite ajusté aux données pour chacune des 54 conditions initiales (deux formulations de lactate combinées avec trois atmosphères protectrices utilisées dans neuf lots de production indépendants), soit 54 courbes du modèle dynamique à ajuster aux données. L'ajustement des courbes du modèle ainsi que l'estimation du paramètre κ ont été effectués par régression non linéaire en utilisant le package R *nlstools* (Baty et al., 2015). Trois indicateurs résumés de la dynamique de l'altération ont été estimés via cet ajustement du modèle : la vitesse d'altération κ, la racine carrée de la vitesse d'altération $\sqrt{\kappa}$ ainsi que la demi-altération t_{50}.

2.2.2 Etudes des liens entre les variables et les indicateurs dynamiques

Afin d'évaluer le lien entre les conditions initiales caractérisées par des mesures d'altération courantes et par la composition du microbiote au temps initial et la dynamique de l'altération subséquente, plusieurs stratégies de modélisation ont été testées en vue d'identifier de possibles prédicteurs pertinents de l'altération. L'ensemble de ces stratégies de modélisation est schématisé dans la Figure V. 3.

iv. Stratégie 1 : explication d'un indicateur résumé de l'altération par les mesures courantes au temps initial

La première stratégie consistait à utiliser un modèle de régression linéaire multiple (MLR) (Myers, 1990) pour révéler des liens potentiels entre un indicateur d'altération et les mesures d'altération courantes au temps initial. L'idée de cette stratégie était de savoir s'il était

possible de décrire la variation d'un indicateur d'altération (par exemple une vitesse d'altération κ ou un temps intermédiaire t_{50}) en fonction de certaines variables explicatives courantes facilement mesurées au temps initial sur un produit frais. Les indicateurs et les variables considérés comme prédicteurs potentiels sont détaillés dans la Table V. 1. L'analyse de régression donne la possibilité d'identifier les mesures ayant un effet significatif sur l'indicateur et pouvant être considérées comme prédicteurs pertinents de l'altération.

Table V. 1 Indicateurs d'altération et prédicteurs potentiels considérés pour les stratégies d'analyse.

	Symbol	Définition	Unité
Prédicteurs X	$X_{O_2(t_0)}$	Concentration initiale de O_2 dans le packaging	%
	$X_{CO_2(t_0)}$	Concentration initiale de CO_2 dans le packaging	%
	$X_{Lac(t_0)}$	Concentration initiale de lactate dans la formulation	g.kg^{-1}
	$X_{pH(t_0)}$	Valeur du pH au temps initial	unité pH
	$X_{TAMB(t_0)}$	Dénombrement total de bactéries mésophiles aérobies	log UFC.g^{-1}
	$X_{LAB(t_0)}$	Dénombrement de bactéries lactiques sur milieu MRS	log UFC.g^{-1}
	$X_{L*(t_0)}$	Mesure de couleur CIE – Clarté	-
	$X_{a*(t_0)}$	Mesure de couleur CIE – Indice vert-rouge	-
	$X_{b*(t_0)}$	Mesure de couleur CIE – Indice bleu-jaune	-
	$X_{m_i(t_0)}$	Nombre de reads pour l'OTU i $(i = 1, \dots, 150)$	nombre de reads
Réponses ou indicateurs à expliquer Y	t_{50}	Temps intermédiaire d'altération olfactive	jour
	κ	Vitesse d'altération olfactive	jour^{-1}
	$\sqrt{\kappa}$	Racine carrée de la vitesse d'altération olfactive	jour$^{-1/2}$
	$Y_{s(t=2,8,15,22)}$	Score sensoriel aux temps de suivis (jour 2, 8, 15 et 22)	-

Les modèles de régression multiple sont de la forme suivante :

$$Y_{ind} \sim X_{O_2(t_0)} + X_{CO_2(t_0)} + X_{Lac(t_0)} + X_{pH(t_0)} + X_{TAMB(t_0)} + X_{LAB(t_0)} + X_{L*(t_0)} + X_{a*(t_0)} + X_{b*(t_0)}, \quad (Eq.V.3)$$

où Y_{ind} correspond à un des trois indicateurs (estimés précédemment avec le modèle dynamique) à expliquer par les prédicteurs X (Table V. 1), soit la demi-altération t_{50}, la vitesse d'altération κ ou la racine carrée de la vitesse d'altération $\sqrt{\kappa}$. L'analyse de variance

de chaque modèle de régression linéaire multiple fournit la significativité de chaque prédicteur potentiel par sa p-value correspondante.

v. Stratégies 2 : explication des scores sensoriels par les mesures courantes et la composition du microbiote au temps initial.

La deuxième stratégie pour identifier un lien entre les conditions initiales et la dynamique de l'altération consistait à expliquer l'ensemble des scores sensoriels $Y_{s(t=t_1,t_2,\dots)}$ obtenus à différents temps d'échantillonnage par une prise en compte de la structure du microbiote initialement présent sur le produit. Par conséquent, pour cette stratégie, les conditions initiales incluaient, en complément des mesures courantes utilisées précédemment, les 150 variables « microbiote », notées respectivement $X_{m_i}\ (i = 1, \dots, 150)$.

Pour expliquer le lien entre l'ensemble des scores $Y_{s(t=t_1,t_2,\dots)}$ et les variables explicatives considérées, les analyses de régression des moindres carrés partiels (PLS-R) ont été réalisées. Ces analyses ont été faites en deux étapes successives, notamment en raison du grand nombre de variables explicatives par rapport au nombre d'échantillons (54 dynamiques à expliquer issues de 54 conditions initiales). La première étape, appelée analyse PLS-R « filtrage », visait à réduire le nombre de variables dans la classe « microbiote » et à retenir les plus pertinentes pour la suite. L'analyse « filtrage », reliant un indicateur et uniquement les variables « microbiotes », a été formalisée comme suit :

$$Y_{s(t=t_1,t_2,\dots)} \sim X_{m_1} + \cdots + X_{m_i} + \cdots X_{m_{150}}\ (i = 1, \dots, 150), \qquad (Eq.V.4)$$

où X_{m_i} correspond à l'ensemble des variables microbiote. A l'issue de cette étape, les variables les plus importantes ont été sélectionnées pour la suite selon leur VIP (importance de la variable dans la projection), et seules les n_m variables avec un VIP > 0.8 ont été retenues (Rossini et al., 2012). La deuxième étape combinait ensuite ces variables retenues après filtrage avec les variables associées aux « mesures courantes » pour expliquer les scores sensoriels $Y_{s(t=t_1,t_2,\dots)}$:

$$Y_{s(t=t_1,t_2,\dots)} \sim X_{O_2(t_0)} + X_{CO_2(t_0)} + X_{Lac(t_0)} + X_{pH(t_0)} + X_{TAMB(t_0)} + X_{LAB(t_0)} + X_{L*(t_0)} + X_{a*(t_0)} + X_{b*(t_0)} + \sum_{j=1\dots n_m} X_{m_j} (j = 1, \dots, n_m), \qquad (Eq.V.5)$$

où X_{m_j} correspond aux n_m variables retenues après filtrage.

Ces analyses PLS-R ont été réalisées en utilisant le package R *pls* (Mevik, 2019) avec l'algorithme des scores orthogonaux. Nous avons choisi de faire la validation croisée avec un découpage des données en lots car les variabilités biologiques aux temps initiaux étaient supposées provenir principalement des lots de production différents. Le nombre de composantes PLS-R retenues avec validation croisée a été sélectionné par minimisation du RMSEP (« *Root Mean Square Error of Prediction* »). La capacité prédictive du modèle

PLS-R a été évaluée par les coefficients R^2 ainsi que par graphique d'ajustement avec un intervalle de confiance de prédiction estimé selon une méthode proposée par Aji, Tavolaro, Lantz, & Faraj (2003).

vi. Stratégie 3 : explication d'un indicateur résumé de l'altération par les mesures courantes et la composition du microbiote au temps initial.

La troisième stratégie était similaire au modèle de régression PLS-2 décrit ci-dessus. Cependant, les variables à expliquer ne correspondait plus à l'ensemble des scores sensoriels obtenus aux différents temps d'échantillonnages mais à chacun des indicateurs résumé estimés précédemment, soit la demi-altération t_{50}, la vitesse d'altération κ ou la racine carrée de la vitesse d'altération $\sqrt{\kappa}$. Le modèle PLS-1 (faisant référence à une seule variable à expliquer contrairement au modèle PLS-2 ci-dessus permettant d'expliquer plusieurs scores aux différents temps) a donc été formalisé de telle manière à expliquer chaque indicateur par les mesures courantes et les variables microbiotes filtrées comme précédemment.

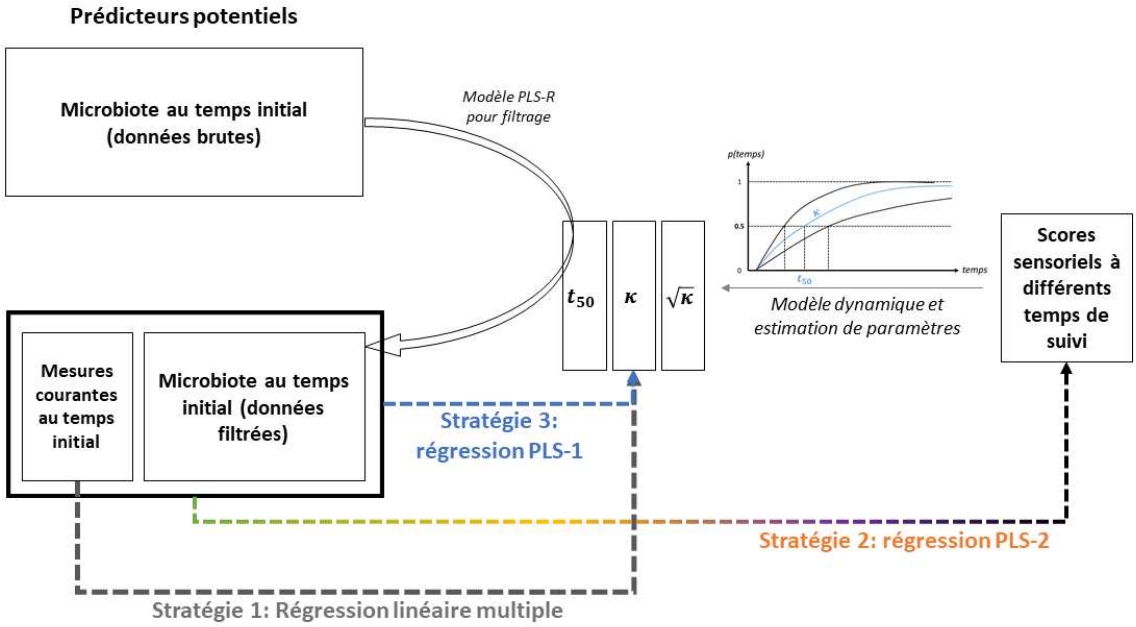


Figure V. 3 Représentation schématique des stratégies d'analyse utilisées pour l'étude des liens entre les conditions initiales et la dynamique de l'altération

3 Résultats

3.1 Description globale des conditions initiales et des paramètres dynamiques estimés

Les produits issus des 54 conditions initiales présentaient au temps initial des valeurs de pH variant de 6,17 à 6,75 avec une moyenne de 6,40. Le dénombrement total au temps initial des bactéries aérobies mésophiles variait entre 4,2 et 6,7 log UFC/g avec une moyenne parmi

toutes les conditions de 5,7 log UFC/g. Quant aux bactéries lactiques, le dénombrement au temps initial variait entre 2,4 et 4,6 log UFC/g avec une moyenne de 3,4 log UFC/g. La mesure des concentrations de O_2-CO_2 dans les conditionnements n'a pas montré d'écart important avec les concentrations des mélanges gazeux commerciaux utilisés pour le conditionnement. En effet, les concentrations O_2-CO_2 mesurées moyennes étaient 70,6%-24,3% et 1,4%-43,9% dans les conditionnements sous MAP1 : 70%O_2-30%CO_2 (ALIGAL™ 27, Air Liquide) et MAP2 : 50% CO_2-50%N_2 (mélange ALIGAL™ 15, Air Liquide). Les mesures des conditionnements sous air étaient également cohérentes (20,8% d'O_2-0,1% CO_2). Pour la composition du microbiote, contrairement aux variables ci-dessus, le nombre de reads par OTU variait considérablement d'un échantillon à l'autre ce qui représentait un ensemble de profils très varié du microbiote au temps initial. Enfin, les paramètres demi-altération t_{50} estimés par le modèle dynamique correspondant à chaque modalité de formulation de lactate et de conditionnement sont représentés graphiquement dans la Figure V. 4. Cette figure montre globalement une différence entre les distributions de t_{50} associées à ces modalités qualitatives : en l'occurrence, l'utilisation de la formulation de lactate 20g/kg et de l'atmosphère MAP:50%CO_2-50%N_2 semblaient allonger le temps de demi-altération (où 50% du panel sensoriel perçoit une odeur d'altération) par rapport à la formulation sans lactate et le conditionnement sous air.

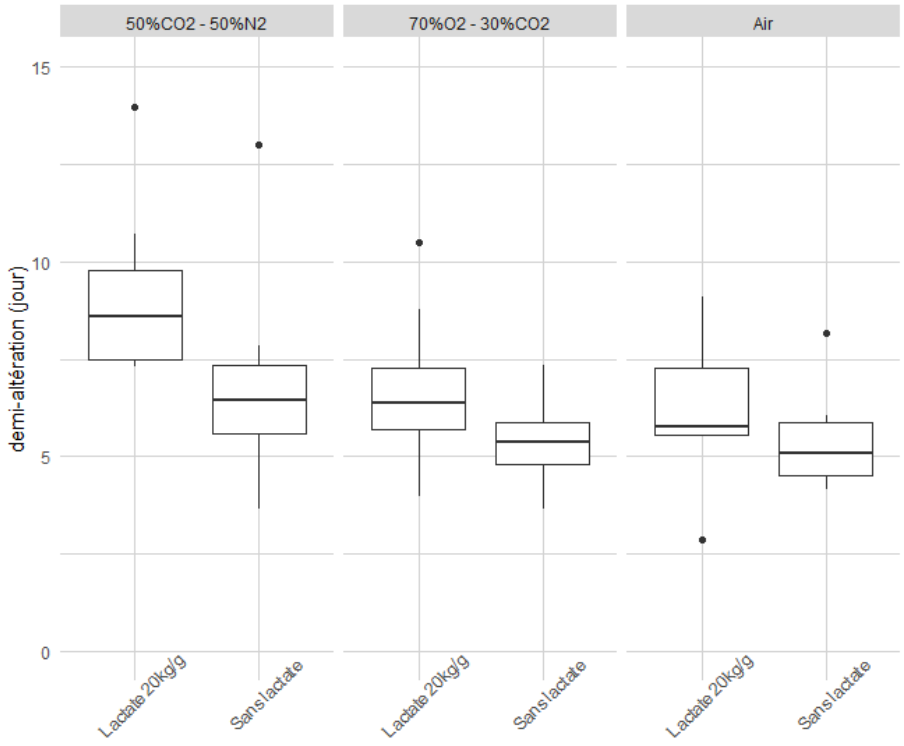


Figure V. 4 Estimation du paramètre demi-altération t_{50} (exprimé en jour) par le modèle dynamique décrivant l'évolution du score sensoriel. Chaque point correspond à la demi-altération estimé par lot en fonction des modalités de formulation de lactate et de conditionnement. Les box plots représentent les distributions de ces demi-altérations.

3.2 Evaluation de la capacité prédictive de chaque stratégie d'analyse

3.2.1 Stratégie 1 - explication d'un indicateur d'altération par les mesures courantes au temps initial

Les estimations ponctuelles ainsi que les intervalles de prédictions à 95% donnés par les modèles de régression reliant les mesures courantes et chacun des indicateurs : demi-altération t_{50}, vitesse d'altération κ et racine carrée de la vitesse d'altération $\sqrt{\kappa}$ sont

représentés dans les graphiques de la Figure V. 5 pour confronter les ajustements ci-dessus aux données observées et ce pour chacun des trois indicateurs utilisés.

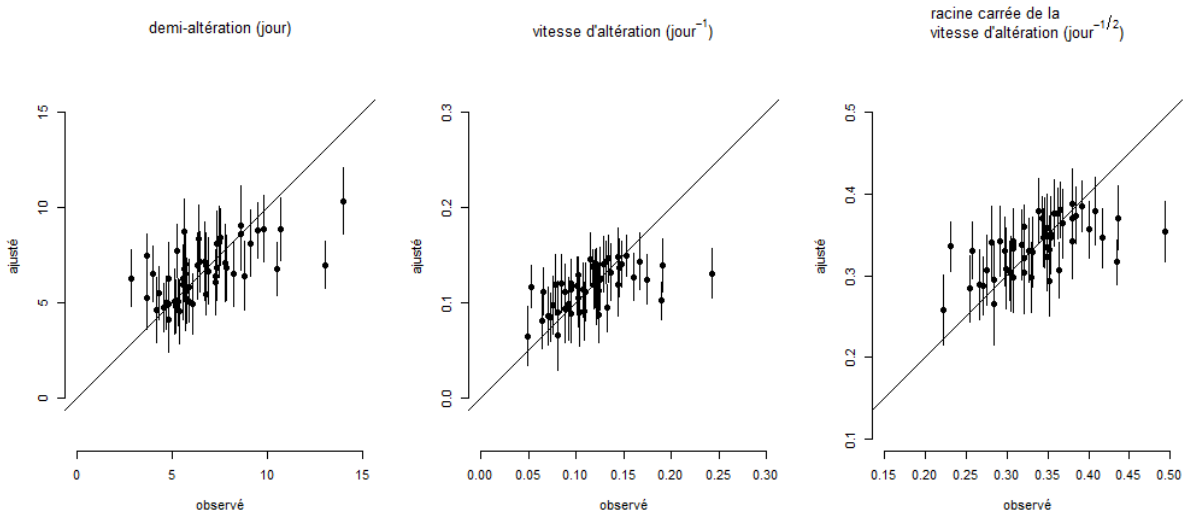


Figure V. 5 Ajustement des modèles de régression multiple décrivant la demi-altération t_{50}, la vitesse d'altération κ et la racine carrée de la vitesse d'altération $\sqrt{\kappa}$ par les mesures courantes au temps initial

Les estimations et les intervalles de prédiction pour les trois indicateurs semblaient globalement corrects avec les variables explicatives incluses, les prédictions pour les valeurs extrêmes sont toutefois fortement biaisées. En effet, par exemple pour l'indicateur de demi-altération t_{50}, les intervalles de prédictions étant aux alentours de +/- 1.5 jours, ce qui était plutôt satisfaisant en termes de précision ; le modèle a toutefois surestimé le temps d'altération intermédiaire pour certaines conditions où l'altération était effectivement rapide à moins de 4 jours, et sous-estimé en revanche les valeurs élevées du temps d'altération notamment à partir de 9 jours. Ce biais a été observé également pour les deux autres indicateurs représentant des vitesses d'altération. Par ailleurs, les valeurs R^2 pour l'ajustement des trois modèles de régression étant faibles, elles ont été estimées à 0.285, 0.194 et 0.234 pour les indicateurs t_{50}, κ et $\sqrt{\kappa}$, respectivement. Par conséquent, ces résultats suggèrent que les mesures courantes de l'altération au temps initial incluses dans le modèle jusqu'ici n'étaient pas suffisantes pour expliquer l'évolution de la perception d'odeur dans le temps. L'amélioration de cette description nécessiterait certainement la prise en compte de la composition du microbiote initialement présent sur les produits.

3.2.2 Stratégie 2 : explication des scores sensoriels par les mesures courantes et la composition du microbiote au temps initial

La confrontation des prédictions ponctuelles du modèle de régression PLS-2 aux scores sensoriels observés aux quatre temps d'échantillonnage (jour 2, 8, 15 et 2) est représentée dans la Figure V. 6. Même si les tendances de prédiction sont plutôt respectées pour les jours 2 et 22, la plupart des points correspondant aux jours 8 et 15 sont très dispersés et ont montré une qualité de prédiction du score sensoriel nettement insuffisante. Par exemple,

pour certains points du J8 ou J15, les scores d'altération étaient soit surestimés soit sous-estimés par le modèle avec un écart important par rapport aux données observées pouvant s'élever jusqu'à +/- 0.2 environ, ce qui correspond à une erreur pouvant atteindre 20% sur la proportion du panel sensoriel percevant une odeur d'altération à 8 ou 15 jours de stockage. Or, ces temps de suivis sont en général très importants dans une optique de prédiction car ils représentaient les points de changement dans la dynamique de l'altération, contrairement aux jours 2 et 22 où les produits sont déjà supposés très frais et très altérés respectivement. L'insuffisance de la qualité de prédiction se confirme également avec la valeur très faible du R^2 du modèle estimé (très proche de 0). Par conséquent, le modèle de régression PLS-2 visant à faire un lien entre les conditions initiales et les scores sensoriels obtenus distinctement a montré peu d'intérêt en termes de prédiction de la dynamique de l'altération.

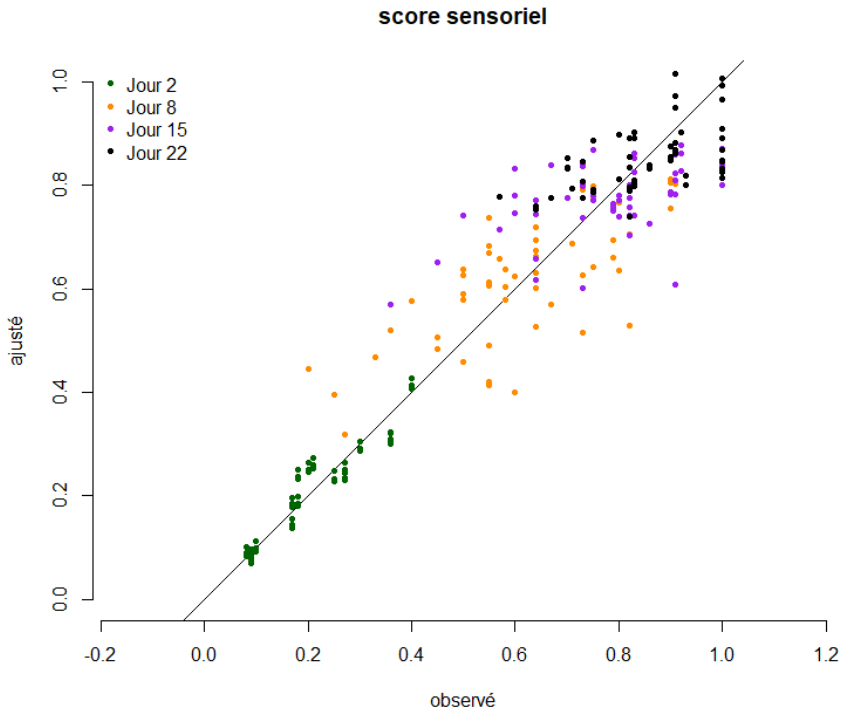


Figure V. 6 Ajustement du modèle PLS2 décrivant le score sensoriel mesuré à différents temps de suivi par les mesures courantes et la composition initiale du microbiote.

3.2.3 Stratégie 3 : explication d'un indicateur résumé de l'altération par la composition du microbiote et les mesures courantes au temps initial

Les estimations ponctuelles ainsi que les intervalles de prédictions à 95% donnés par les modèles de régression PLS reliant les conditions initiales (mesures courantes et composition du microbiote) et chacun des indicateurs résumés de l'altération (soit demi-altération t_{50},

vitesse d'altération κ et racine carrée de la vitesse d'altération $\sqrt{\kappa}$) sont représentés dans les graphiques de la Figure V. 7.

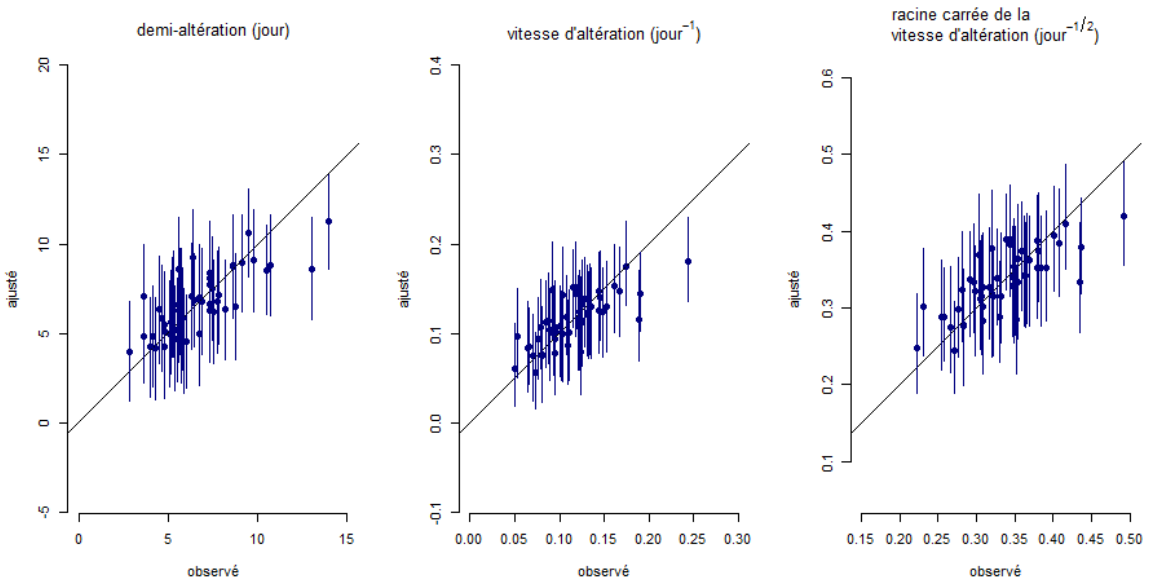


Figure V. 7 Ajustement des modèles PLS1 décrivant la demi-altération t_{50}, la vitesse d'altération κ et la racine carrée de la vitesse d'altération $\sqrt{\kappa}$ par les mesures courantes et la composition du microbiote au temps initial.

Comme décrit sur la Figure V. 7, les trois modèles PLS1 ont globalement donné des estimations ponctuelles des indicateurs considérés moins biaisées qu'avec les modèles MLR incluant uniquement les mesures courantes utilisés dans la stratégie 1. La prise en compte de la composition initiale du microbiote dans la prédiction de la dynamique de l'altération contribuerait donc à l'amélioration de la tendance de prédiction, notamment pour les cas de demi-altération très rapide à moins de 5 jours. L'écosystème de départ peut donc avoir une influence sur la tendance à s'altérer plus ou moins vite pendant le stockage. Les valeurs de capacité prédictive R^2 correspondant à ces modèles PLS-R suggèrent cependant une qualité de prédiction encore faible. Par exemple, le R^2 correspondant au modèle décrivant t_{50} (resp. κ) a été estimé à 0.21 (resp. 0.16), ce qui correspond à un niveau de prédiction jugé comme « faible » selon les recommandations de Chin (1998).

3.3 Sélection de modèle et effets des conditions initiales sur la dynamique de l'altération

Malgré les faibles valeurs caractérisant la capacité prédictive des modèles proposés dans les trois stratégies proposées jusqu'ici, la stratégie 3 combinant les mesures courantes et le microbiote dans les conditions initiales avec un indicateur résumé de la dynamique de l'altération s'est finalement révélée intéressante car cette stratégie (i) réduisait le biais observé dans la prédiction des indicateurs demi-altération ou vitesse d'altération par rapport à la stratégie 1 prenant en compte uniquement les mesures courantes, et (ii) elle améliorait

la capacité prédictive par rapport à la stratégie 2 (valeur de capacité prédictive proche de 0). Ces résultats suggèrent donc la nécessité de prendre en compte la composition du microbiote initial dans les prédicteurs potentiels de l'altération ainsi que de résumer la dynamique de l'altération par un seul indicateur via un modèle dynamique adéquat. Par ailleurs, parmi les trois indicateurs d'altération utilisés (t_{50}, κ et $\sqrt{\kappa}$) dans la stratégie 3, le modèle décrivant la demi-altération t_{50} pouvait d'une part avoir une meilleure capacité prédictive par rapport aux paramètres vitesses κ et $\sqrt{\kappa}$ et d'autre part faciliter l'interprétation avec un paramètre basé sur une notion de temps. Pour ces raisons, nous avons cherché à mieux comprendre, avec la stratégie 3 basée sur l'indicateur de demi-altération t_{50}, des liens potentiels entre les conditions initiales et la dynamique de l'altération via l'identification de variables importantes au temps initial dans la détermination de cet indicateur basée sur leur VIP. Ces VIP sont représentés dans la Figure V. 8.

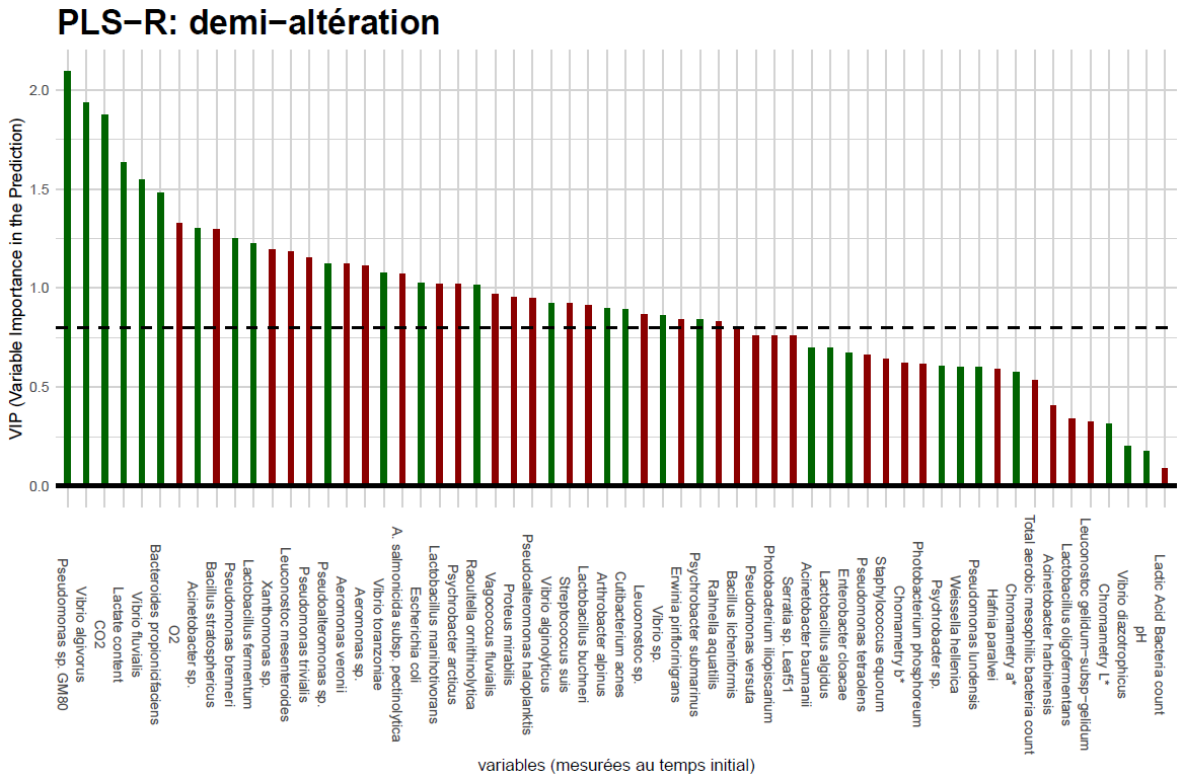


Figure V. 8 VIP des variables considérées dans la stratégie d'analyse 3 - explication de la demi-altération t_{50} par les mesures courantes et la composition du microbiote au temps initial (uniquement avec les variables retenues après l'étape de PLS « filtrage »). Le trait pointillé horizontal correspond au seuil de VIP fixé à 0.8. La couleur correspond au signe des coefficients de régression (vert : positif, rouge : négatif).

La Figure V. 8 montre, principalment six variables qui contribuaient le plus à la variation de l'indicateur demi-altération t_{50}. Parmi les mesures courantes, la concentration initiale du lactate ainsi que celle du CO_2 dans les mélanges gazeuses utilisés pour le conditionnnement se sont révélés importants dans la variation de la demi-altération. Les coefficients de régression correspondant à ces deux variables étant positifs, suggérant une tendance de rallonger la demi-altération avec l'ajout du lactate ou une forte teneur en CO_2 dans

l'atmosphère protectrice. En revanche, la charge totale de bactéries lactiques et bactéries aérobies mésophiles ainsi que le pH mesurés au temps initial n'ont pas été observés comme des variables importantes. En ce qui concerne la composition du microbiote, quatre espèces bactériennes différentes au temps initial ont montré une contribution importante à la description de la demi-altération. Ces espèces appartenaient aux genres *Pseudomonas, Vibrio, Bacteroides.* Les autres variables, sachant que la Figure V. 8 montre une décroissance des VIP plutôt lente, ne semblent pas avoir une contribution individuelle claire.

4 Discussion

Cette partie du travail consistait à développer plusieurs stratégies d'analyse statistique permettant de relier différents types de mesures de l'altération de saucisses dans une optique de prévoir leur dynamique pendant le stockage en fonction des conditions physicochimiques et microbiologiques au temps inital. Les approches statistiques utilisées pour relier les variables n'étant pas nouvelles (régression linéaire multiple ou régression PLS largement utilisées dans la littérature) (Liu et al., 2006; Salinas et al., 2014; Xiao-wei et al., 2014) ; par contre, la dynamique d'altération caractérisée par le changement du score sensoriel au cours du temps, a été modélisée par un modèle dynamique non linéaire dont nous avons défini les paramètres comme indicateurs d'altération. Un des indicateurs proposés, la demi-altération, pourrait être une manière innovante d'évaluer les effets des modalités de procédés (par exemple lactate ou conditionnement) sur la qualité sensorielle d'un produit carné avec uniquement les données issues des séances de « sniffing » sur seulement quatre temps de suivi au cours du stockage. Notre modèle dynamique décrivant l'évolution de la perception d'odeur n'avait qu'un seul paramètre à estimer (ses valeurs initiales et asymptotiques étant supposées fixées), ce qui représente un avantage dans l'ajustement du modèle, notamment quand peu de temps d'échantillonnages sont suivis. La notion de temps d'altération caractérisée par l'indicateur demi-altération pourrait intuitivement avoir un intérêt industriel dans une optique de prévoir un instant où un changement dans la qualité du produit est observé par les consommateurs. Enfin, le choix de la proportion de 50% du panel sensoriel étant arbitraire dans cette étude, il pourrait donc être calibré librement pour d'autres perspectives de prévision.

Dans ce travail, l'estimation de cet indicateur d'altération via le modèle dynamique suggérait que l'utilisation de la formulation de lactate 20g/kg combinée à l'atmosphère MAP : 50% CO_2-50%N_2 allongait le temps pour lequel la moitié d'un panel sensoriel percevait une odeur d'altération, par rapport à la formulation sans lactate et au conditionnement sous air ou sous atmosphère enrichie en oxygène. Cet effet observé du conditionnement sur l'altération serait probablement lié à la présence (voire concentration élevée) de l'oxygène dans le mélange gazeux qui pourrait favoriser l'oxydation rapide de la viande (Veberg et al., 2006).

Quant à l'effet de la formulation, l'ajout du lactate pouvait allonger la demi-altération définie dans cette partie, c'est-à-dire pour un temps de suivi « intermédiaire » au cours du stockage (par exemple au jour 8), le lactate réduisait la perception d'odeurs, et ce résultat était très cohérent avec notre première phase exploratoire (cf. chapitre I) qui avait identifié un effet significatif de la formulation sur la percpetion d'odeurs. Cependant, le mécanisme d'action du lactate de potassium (mécanisme physicochimique) sur le ralentissement de l'altération olfactive pendant le stockage n'est à ce jour pas encore bien documenté.

Il a été observé, via notre première stratégie d'analyse, que les mesures courantes au temps initial comme la charge totale de bactérienne aérobies mésophiles et lactiques, le pH ou la concentration des gaz ou lactate n'ont pas suffi pour une prédiction satisfaisante des indicateurs d'altération comme la demi-altération ou vitesse d'altération. En effet, un biais important a été observé avec l'analyse incluant uniquement ces mesures courantes. Cela confirme la nécessité de prendre en compte la composition du microbiote dans les caractéristiques initiales de la viande car l'influence de la présence/densité initiale de différentes espèces bactériennes sur l'altération est largement étudiée (Chaillou et al., 2015; Doulgeraki et al., 2010; Labadie, 1999). La prise en compte du microbiote dans notre stratégie d'analyse a permis de réduire le biais observé pour les indicateurs d'altération utilisés.

Cette prise en compte du microbiote initial a montré toutefois d'autres difficultés dans la prévision de la dynamique de l'altération. En effet, les faibles valeurs de la capacité prédictive dans nos stratégies ont été observées, probablement en raison du grand nombre d'espèces présentes dans le microbiote par rapport au nombre total de « données » (54 conditions initiales suivies). De plus, parmi les indicateurs d'altération définis, la stratégie reliant les conditions initiales (microbiote et mesures courantes) à la demi-altération s'est révélée plus pertinente que celle utilisant la vitesse d'altération (meilleure valeur de capacité prédictive observée). Par ailleurs, les erreurs de prédictions seraient également dues aux éventuelles variations intra-écosystème liées au développement de différentes espèces bactériennes et à leurs interactions, à leurs métabolismes respectifs susceptibles de conduire à l'apparition de l'odeur d'altération. Ces variations intra-écosystème seraient donc difficiles à prendre en considération avec uniquement les conditions initiales qui présentaient pourtant des contributions quasi similaires de différentes espèces bactériennes initialement présentes à la prédiction de la demi-altération (évaluation du VIP). L'idée d'évaluer la contribution des espèces au temps initial sur la dynamique de l'altération suppose que cette contribution ne change pas au cours du temps, or les variations intra-écosystème peuvent induire également la variation de cette contribution. Une meilleure description de la dynamique de l'altération microbiologique nécessiterait la prise en compte des structures de microbiotes au fil du temps.

Au vu de l'évaluation de nos différentes stratégies et de différentes difficultés discutées ci-dessus, l'utilisation d'un modèle reliant les caractéristiques physicochimiques et microbiologiques (charge et composition) initiales et un indicateur de temps d'altération (comme une demi-altération) pourrait ouvrir une première perspective intéressante sur la prévision de la tendance globale de la dynamique d'altération. Cette perspective pourrait s'avérer intéressante si les conditions initiales pouvaient être maîtrisées ou connues, par exemple lors d'un challenge-test avec une inoculation d'un écosystème bactérien dont la composition est *a priori* connue. Quant à l'appréhension de la dynamique de l'altération et de ses mécanismes microbiens sous-jacents, une perspective peut s'ouvrir sur le développement d'une méthodologie permettant de prendre en compte non seulement les changements dans le microbiote mais également la caractérisation des métabolites bactériens susceptibles d'être la cause de différents types d'odeur d'altération.

Annexe : Traitement de données manquantes

Les données manquantes dues à des problèmes techniques au laboratoire concernaient les variables suivantes : la concentration de gaz (O_2 et CO_2) au temps initial, la charge totale de bactéries aérobies mésophiles et de bactéries lactiques au temps initial.

- Pour la concentration de O_2 (resp. CO_2): les données manquantes au temps initial ont été imputées par la concentration moyenne de O_2 (resp. CO_2) au temps initial du même type de conditionnement sur l'ensemble des lots de production.
- Pour la charge totale de bactéries aérobies mésophiles et de bactéries lactiques : au temps initial : les données manquantes ont été imputées par la charge moyenne au temps initial sur tous les conditions initiales du même lot de production.

Chapitre VI – Etude des liens entre le microbiote, le volatilome et les profils sensoriels

Préambule

Ce dernier chapitre de thèse porte sur une étude des liens entre la composition du microbiote, le volatilome (quantification de différents composés organiques volatils) et les profils sensoriels olfactifs des saucisses de volaille. Pour ce faire, une approche d'intégration de données « multi-bloc » Path-ComDim a été utilisée pour relier les trois blocs de données « microbiote », « volatilome » et « profils sensoriels » collectée à différents temps de suivi selon un schéma orienté défini *a priori*. L'enjeu de cette étape consiste à identifier des liens spécifiques entre les réponses issues de chaque bloc afin de mieux comprendre des mécanismes microbiens impliqués dans l'altération.

Le travail présenté dans ce chapitre a fait l'objet est en cours de valorisation via un article de recherche (soumis au journal *« International Journal of Food Microbiology »*). L'article est présenté dans la partie suivante.

Article soumis dans *International Journal of Food Microbiology (b)*

Deciphering specific microbiological spoilage patterns in meat products with Path-ComDim: path modelling from microbiota to volatilome and sensory profiles.

Ngoc-Du Martin Luong[1], Jeanne-Marie Membré[1], Louis Coroller[2], Monique Zagorec[1], Simon Poirier[3], Stéphane Chaillou[3], Marie-Hélène Desmonts[4], Dalal Werner[4], Véronique Cariou[5], Sandrine Guillou[1]

1. Secalim, INRAE, Oniris, Nantes, France

2. Univ de Brest, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne (LUBEM), UMT Alter'ix, Quimper, France

3. Micalis, INRAE, Jouy-en-Josas, France

4. Aerial, Illkirch, France

5. StatSC, Oniris, INRAE, Nantes, France

Corresponding author

Sandrine Guillou : sandrine.guillou@inrae.fr

Abstract

Microbiological spoilage in fresh meat products is known as a complex phenomenon, which involves bacterial metabolism leading to meat degradation and deterioration of sensory qualities. The objective of this study was to identify, using an innovative data integration approach, relationships between microbiota composition, volatilome and off-odour sensory profiles of fresh turkey sausages for a better understanding of their spoilage. Sausages were industrially produced in ten independent batches with two lactate formulations (0 and 2% w/w), packed under three initial gas mixtures (air, MAP1:70%O_2-30%CO_2 and MAP2:50%CO_2-50%N_2) and monitored at different time points after production. The data integration analysis was carried out with the Path-ComDim approach, while including oriented relationships between data blocks, highlighting relationships between relevant specific responses. Regarding all measured responses, the analysis clearly separated samples by the storage time, highlighting then the dynamical nature of spoilage in turkey sausages. The volatilome and off-odour profiles were well explained by the analysis by the obtained inertia, and the link between these blocks was highly significant. Nevertheless, the inertia of the microbiota was low (less than 10%). The general odour of tainted meat was related to

different molecules such as ethanol, 1-propanol or ethyl acetate and shown to be linked to different LAB species (*Lc. piscium*, *L. gelidum*) as well as several *Serratia* and *Psychrobacter* species. The production of acetoin and diacetyl were observed to be associated with the cheesy and sulphurous off-odours. The formation of isopropanol, 2-methylbutyraldehyde appeared to be linked with the development of *A. salmonicida*, *L. algidus, Enterobacter sp.*, *B. thermosphacta* and *P. phosphoreum*,. Our results suggested that this link contributed to the separation of sausage samples among gas mixtures used in packaging. The Path-ComDim approach could be a promising data integration analysis approach for studying complex phenomena like spoilage from large-scale dataset, since it includes *a priori* assumptions on oriented links between data blocks and provides the global structuration of the whole dataset as well as the most important relationships between specific variables.

Keywords

Poultry sausage, Potassium lactate, Modified Atmosphere Packaging, Next-Generation Sequencing, Volatile Organic Compounds, Sensory Profile, Off-odours, Data integration

Highlights

- Volatilome and off-odour profiles were well explained by the Path-ComDim approach
- The integrated dataset was strongly structured according to storage time
- The link oriented from volatilome to off-odour descriptors was highly significant
- Tainted odour was related to alcohol likely produced by *Lc. piscium*, *L. gelidum*
- Acetoin/diacetyl production was mainly related to the cheesy and sulphurous odours

Abbreviations

- HTS High-throughput sequencing
- HS-GC-MS Headspace Gas Chromatography Mass Spectrometry
- LAB Lactic Acid Bacteria
- LRM-LV Linear Regression Model on Latent Variable
- MAP Modified Atmosphere Packaging
- OTU Operational Taxonomic Unit
- PLS-LV Partial Least Squares regression on Latent Variable
- VOC Volatile organic compound

1 Introduction

Fresh meat and meat-based products are highly perishable food, susceptible to degradation and spoilage within few days following production. Food spoilage can be defined as any change in the product organoleptic quality that renders it unsuitable for human consumption (Huis in't Veld, 1996; Pellissery et al., 2019). Meat spoilage may either have a physico-

chemical origin due to oxidation and action of enzymes such as lipases and proteases (Dave & Ghaly, 2011), or a biological origin due to growth of bacteria, yeast or mould, or both (Erkmen & Bozoglu, 2016; Iulietto et al., 2015). Nevertheless, the main cause of meat spoilage is due to the contamination of foods by microorganisms hosted by animals as well as spread into the factory environment or transmitted through human handling (Chaillou et al., 2015; Hultman et al., 2015). During storage, microbial growth may generate undesirable volatile metabolites which in turn may cause substantial olfactory side-effects because of an increase of their concentration over time (Casaburi et al., 2015). Meat spoilage is therefore considered as a complex process which involves bacterial metabolism leading to degradation of meat sensory qualities. In particular, off-odours are often a cause of rejection by consumers of spoiled products (Ammor et al., 2009).

Studies of microbiological spoilage in meat products in the literature generally combine different types of analyses encompassing microbiological and physicochemical measurements. Nowadays, the characterisation of the bacterial microbiota has been widely investigated since the recent advances in high throughput sequencing (HTS) methods of 16S rRNA amplicons, giving relative abundances of Operational Taxonomic Units (OTUs) (Cao et al., 2017; Cardinali et al., 2017). Volatilome profiles of spoiled foods defined as the complete set of volatile organic compounds (VOC) generated during storage can be quantified using gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS) analyses. Finally, the characterization of off-odours is commonly done by sensory evaluation carried out by trained assessors on the basis of several appropriate attributes (Pereira et al., 2015). In general, each block of data (microbiota, volatilome, sensory) is analysed separately or at best by only linking one dataset to another one. To gain a more comprehensive understanding of the spoilage phenomenon, it is necessary to simultaneously analyse and combine heterogeneous datasets characterizing the same set of samples by multiple spoilage-related responses from different sources (compositional, quantitative responses, scores, etc.). In this respect, multi-block and directional modelling for multivariate integrative approaches, also called data fusion or data integration, have become more and more popular in food science as they can shed light on the relationships between subsets of variables from different sources and exhibit common dimensions from the related datasets (Biancolillo et al., 2019; Borràs et al., 2015). Several approaches have been proposed in the literature for both unsupervised and supervised purposes. Unsupervised approaches correspond to situations where blocks of data play a symmetrical role in the data integration process. A unified approach of unsupervised multi-block data analysis is detailed in Tchandao Mangamana et al. (2019). For instance, Ferrocino et al. (2018) and Parlapani et al. (2020) explored correlation between microbiota composition and volatilome in fermented sausages and rose shrimp using Spearman's correlation analyses. Mazerolles et al. (2006) carried out a comprehensive characterisation of cheese products by integrating data tables collected from several kind of measurements (spectroscopic,

rheological and chemical analyses). In the scope of meat spoilage, integrating data correspond rather to supervised situations where the off-odours sensory profile characterizing the various products under study is assumed to result from the volatilome and/or underlying bacterial metabolic pathways. Such relationships between volatilome, sensory profile and bacterial metabolism, can be taken into account in the analysis by specifying *a priori* oriented (directed) paths relating blocks, on the basis of domain knowledge. This directional modelling is commonly called path modelling approach. Herein, not only the sensory profile of the sausages have to be explained but also intermediate links between microbiota composition and volatilome may be explored. This leads to set up a generalized path scenario where a block can be simultaneously assumed explanatory and to be explained by the other blocks. In the case of meat spoilage, such a path structure traduces the facts that the formation of VOCs is the consequence of the microbiota dynamics and the cause of off-odour attributes detected by panellists (Casaburi et al., 2015; Pellissery et al., 2019). Among the various methods dedicated to path analyses, one can cite for example PLS-PM, rGCCA, Path-ComDim, THEME and SO-PLS (Bry et al., 2012; Véronique Cariou et al., 2018; Menichelli et al., 2014; Wold, 1982)

The objective of this study was, by analysing a large-scale multi-block heterogeneous complex dataset, to identify relationships between microbiota composition, volatilome and sensory profile for a better understanding of microbial mechanisms involved in spoilage of fresh turkey sausages made with different formulations of lactate and modified atmosphere packaging (MAP). The data analysis was carried out with Path-ComDim, an extension of the ComDim approach for analysing several blocks of dataset having oriented relations between them (Véronique Cariou et al., 2018). So far this approach has been applied in sensometrics and environment (Breitwieser et al., 2018; Véronique Cariou et al., 2018) but never in the microbiological scope (herein on a dataset made up of microbiota, volatilome and sensory variables).

2 Materials and methods

2.1 The raw dataset

The dataset used in this work was extracted from data collected in a collaborative project in which we took part (Redlosses Project, Grant ANR-16-CE21-0006, funded by the French National Research Agency) and published in a data paper (Poirier et al., 2020). The dataset corresponded to several measurements of spoilage responses of fresh turkey sausages during chilled storage. Turkey sausages were industrially produced in ten independent batches with different formulations in each batch, packed under three gas mixtures for packaging, and monitored at four time points (day 2, 8, 15, 22 after production). For simplification purpose,

we denoted: “Full dose” and “Zero lactate” for the two formulations of lactate (2% and 0% w/w in turkey sausages, respectively); “Air”, “MAP1” and “MAP2” for the three initial atmospheres used for packaging (Air packaging, MAP1:70%O_2-30%CO_2 and MAP2:50%CO_2-50%N_2, respectively). The overall experimental design and all protocols are provided in the data paper.

The extracted dataset used in the present article included three blocks of measurements: (i) microbiota composition monitored by *gyrB* amplicon sequencing, (ii) quantification of VOCs by Headspace Gas Chromatography and Mass Spectrometry (HS-GC-MS) and (iii) sensory profile of the products assessed by trained panelists. Since the experimentations were conducted independently by different laboratories, raw data were structured differently from one block to another with more or less samples in consideration due to differences in techniques, equipment and resources. The dimensions of each block, the data pre-treatment workflow as well as the directed path pattern between blocks are schematised in Figure VI. 1.

Microbiota composition

OTU-based (Operational taxonomic units) microbial diversity analyses were carried out using high-throughput *gyrB* amplicon sequencing in turkey sausages from the ten batches, formulated with the three initial lactate contents and conditioned under the three MAPs at the four time points. The total number of samples in consideration across all batches and all conditions was equal to 360. The extracted raw data included the sequencing read counts of 150 OTUs and the counts had been merged by the authors of the data paper at the ‘Species’ taxonomy level.

Volatilome

The identification and quantification of VOCs were conducted by comparing gas chromatography retention times and mass spectra with those of standards compounds. Peak area in 1-g samples was used as quantitative data. Raw data in the block ‘Volatilome’ were obtained from the quantification of twenty-seven detected volatile organic compounds across all measurements in turkey sausages collected from the ten production batches, formulated with two initial concentrations of lactate (“Full dose” and “Zero lactate”), packed under the three packaging, monitored at the four time points and measured in triplicate (technical replicates).

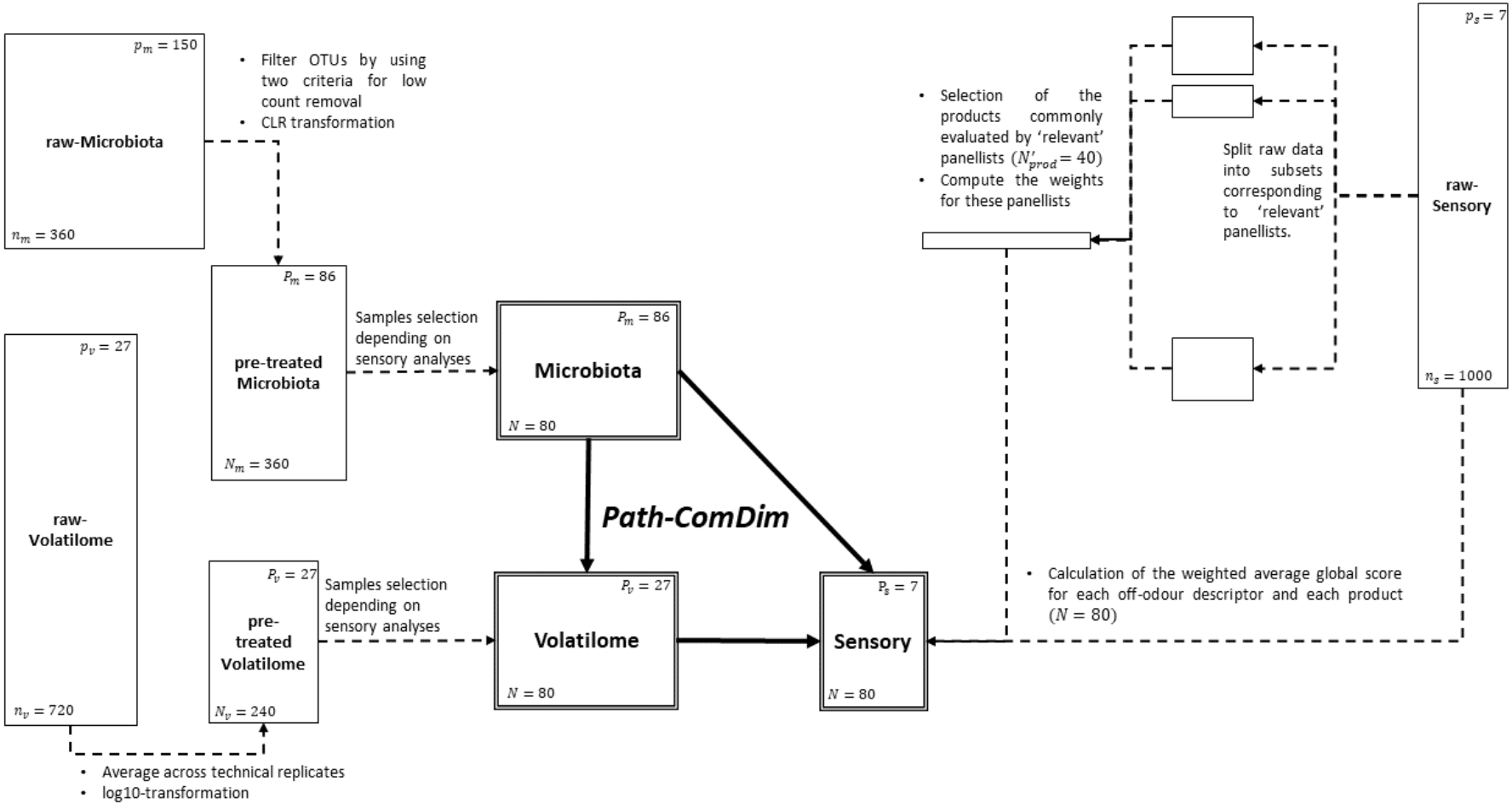


Figure VI. 1 Data pre-treatment workflow. n_m and p_m (resp. n_v and p_v, n_s and p_s) correspond to the dimension (number of rows and columns) of the raw data block Microbiota (resp. Volatilome, Sensory profile). N_m and P_m (resp. N_v and P_v, N_s and P_s) correspond to the dimension (number of rows and columns) of the pretreated data block Microbiota (resp. Volatilome, Sensory profile). N corresponds to the total number of samples for which sensory analyses were assessed. The dotted arrows correspond to the pre-treatment in each block. The solied arrows correspond to the a priori oriented relationships patterns between blocks assumed in the model.

Sensory profile

Sensory profile were assessed for turkey sausages from six independent batches chosen among the 10 batches after a sensorial pre-screening step (Luong et al., 2020b). Fresh sausages, with two lactate concentrations ("Full dose" and "Zero lactate"), were packed at day 2 under three different MAPs and assessed afterward at days 2, 8 and 15. The total number of samples in consideration in sensory analyses across all the above conditions was 80 products ($N = 80$). Off-odours were assessed by a panel of 15 experts who had developed during an 8-month training period a consensus vocabulary to define relevant descriptors for altered sausages (see details in Appendix A-2). The off-odours in each sample were then evaluated by at least 12 panelists on the basis of seven descriptors. Each panelist rated each descriptor intensity of each sample on a continuous scale from 0 to 10 (from "absent" to "very intense", respectively).

2.2 Statistical pre-treatments of raw data

Microbiota

Two criteria were applied for filtering OTUs with very low count as previously done by Bouju-Albert et al. (2017). A normalisation by Centered Log Ratio transformation was performed on the retained OTUs as suggested by Bodein et al (2019) (see Appendix A.1).

Volatilome

The quantification of each VOC (expressed in peak area) was firstly averaged across the three technical measurements from the same sample. Afterwards, the averaged data were $\log_{10}$-transformed for all VOCs to reduce right-skewness in distributions due to low frequencies of very high counts, since their distributions were right-skewed.

Sensory profile

As described above, sensory profiles were assessed for 80 samples ($N = 80$) across two conditions of lactate, three MAP and three time points. To take into account the degree of agreement of each assessor with the panel sensitivity to different off-odour descriptors, a weighted average across the panellists of their product ratings was determined by applying the STATIS method (Schlich, 1996). This led to identify a product configuration compromise where each product is described for each descriptor by a weighted average of the various scores from panelists (see. Appendix A.2).

2.3 Multi-block Path-ComDim approach

For the investigation of the relationships between microbiota composition, volatilome and sensory profile, the path-ComDim approach has been applied (Véronique Cariou et al.,

2018). Path-ComDim is an extension of the unsupervised multi-block method ComDim which aims at simultaneously exhibiting common dimensions shared by the various blocks and, associated with each common dimension, a vector of saliences depicting the degree of agreement of each block with this common dimension (Véronique Cariou et al., 2018; Mazerolles et al., 2006; Qannari et al., 2001). Herein, a path modelling strategy was considered with Path-ComDim with *a priori* oriented links: 1) from "Microbiota" and "Volatilome" to the block "Sensory profile" and 2) from the "Microbiota" to "Volatilome" block (Figure VI. 1). These links were chosen since the off-odours were *a priori* assumed to result from the bacterial development leading to the formation of the VOCs. As all blocks must share the same observations (only variables differ from one block to another), only measurements corresponding to samples evaluated by sensory analyses ($N = 80$) were kept in the path modelling. All the blocks were assumed to be column-wise centred.

Path-ComDim criterion is given in the Appendix B. For a detailed presentation of Path-ComDim we referred to studies of Cariou et al. (2018, 2019). Synthetically, the rationale behind Path-ComDim analysis is to seek a common latent variable t associated with the explanatory blocks together with a common latent variable u associated with the blocks to explain so that they maximize the association between the block components linked by a causal path. This is achieved by a sequential procedure whereby, at each stage, the couple of common components is determined for the corresponding dimension. As output, the relative importance of each dimension in retrieving the structuration of data was computed as well as the explained inertia of each block (variance accounted for each dimension). The strength of the links between blocks in each common dimension was evaluated using its relative salience (expressed in %). In the present study, the significance of each link was discussed using the p-value associated with a Linear Regression model (LRM-LV) as well as R2 coefficient from Partial Least Squares between latent variables (PLS-LV) (see Appendix B). To get insights into the contributions of each pair of variables to each common dimension retrieved, indices have been defined which make it possible to decompose each salience into pairwise covariance between the variables involved. Considering the dimension d, for each link oriented from the block X_k to X_l, a contribution matrix, denoted $A_{kl(d)}$ was computed in order to evaluate how each pair of variables from X_k and X_l contributes to the determination of the common latent variables of Path-ComDim.

In summary, the Path-ComDim approach provided common latent variables across data blocks of "Microbiota", "Volatilome" and "Sensory profile" in such a way that these blocks are highly associated while assuming oriented links between them. These common dimensions showed then the structuration of the products on which spoilage-related responses were monitored. This structuration was evaluated using the relative importance of each dimension as well as the inertia of each block. In each dimension, the importance of each link between blocks was discussed based on its relative salience as well as p-value from

LRM-LV model or R2 coefficient from PLS-LV. Finally, specific relationships between spoilage-related responses from different blocks could be identified by representing graphically the contribution matrices between blocks.

3 Results

3.1 Spoilage associated responses in the pre-treated dataset

After the pre-treatment step, the number of OTUs in microbial community across all 80 samples retained for the Path-ComDim analysis was reduced from 150 to 86 bacterial species, belonging to 29 different genera. Among these 86 species, the data showed mostly the presence of several Lactic Acid Bacteria groups such as *Lactobacillus, Leuconostoc* and *Lactococcus*, as well as different species of *Psychrobacter* and *Pseudomonas*. Besides, some species of *Serratia, Enterobacter* and *Aeromonas* were also observed. The abundance observed in the 80 samples under study varied to a large extent from one species to another (the variance plot is provided in Supplementary data, Fig. VI.S 1). Concerning the volatilome block, the 27 detected VOCs belonged to five groups of chemical compounds including alcohol, aldehyde, ketone, sulphurous and some compounds associated with spices. With regard to the sensory block, seven descriptors were used to characterise the off-odour including general odour of tainted meat, rancid, pungent/sour, ethereal/fermented fruit, fermented meat/old dry sausage-like, old cheese-like and sulphurous odour.

3.2 Structuration of the data by Path-ComDim common dimensions

The three blocks, Microbiota, Volatilome and Sensory, were mainly structured by the three first dimensions (Table VI. 1), with an important gap compared with the subsequent ones (less than 3% from the dimension 4, data not shown). The explained variability of the block "Sensory profile" was the highest with a cumulative inertia of 58.5% corresponding to the three dimensions. Among these latter ones, the "Sensory profile" was particularly explained by the first and the third dimensions with 42.4% and 15.2% of explained inertia, respectively. The volatilome profile was also well explained by the three first dimensions with a cumulative inertia of 44.4%. Concerning the microbiota composition, a cumulative inertia of 20.8% was observed, with an important part of 9.8% explained by the second dimension. The first dimension of Path-ComDim represented the highest relative importance in the data structuration, which corresponded to 74%.

Table VI. 1 Importance of the first common components of Path-ComDim (absolute value of saliences) and contribution of each link to the determination of these components. For LRMLV (Linear Regression Model on Latent Variables) coefficients: p-value significant codes: '*' < 0.05, '**' < 0.01, '***' < 0.001.

Dimension d	Importance of the common components		Inertia in each block (proportion explained)			Contribution of each link								
						Microbiota → Volatilome			Microbiota → Sensory profile			Volatilome → Sensory profile		
	Absolute I_a	Relative I_r	Microbiota	Volatilome	Sensory profile	Relative salience (%)	LRM-LV coefficient	R2 (PLS-LV)	Relative salience (%)	LRM-LV coefficient	R2 (PLS-LV)	Relative salience (%)	LRM-LV coefficient	R2 (PLS-LV)
1	0.1831	74.0%	5.2%	26.1%	42.4%	4.9%	1.75 *	0.48	16.8%	1.56	0.48	78.3%	1.79 *	0.48
2	0.0177	7.2%	9.8%	14.1%	0.9%	89.9%	-0.03	0.01	1.2%	-1.59 *	0.18	8.9%	-1.14	0.19
3	0.0158	6.4%	5.8%	4.2%	15.2%	3.5%	-1.42 *	0.24	57.4%	-0.05	0.06	39.1%	-0.04	0.06
Total			20.8%	44.4%	58.5%									

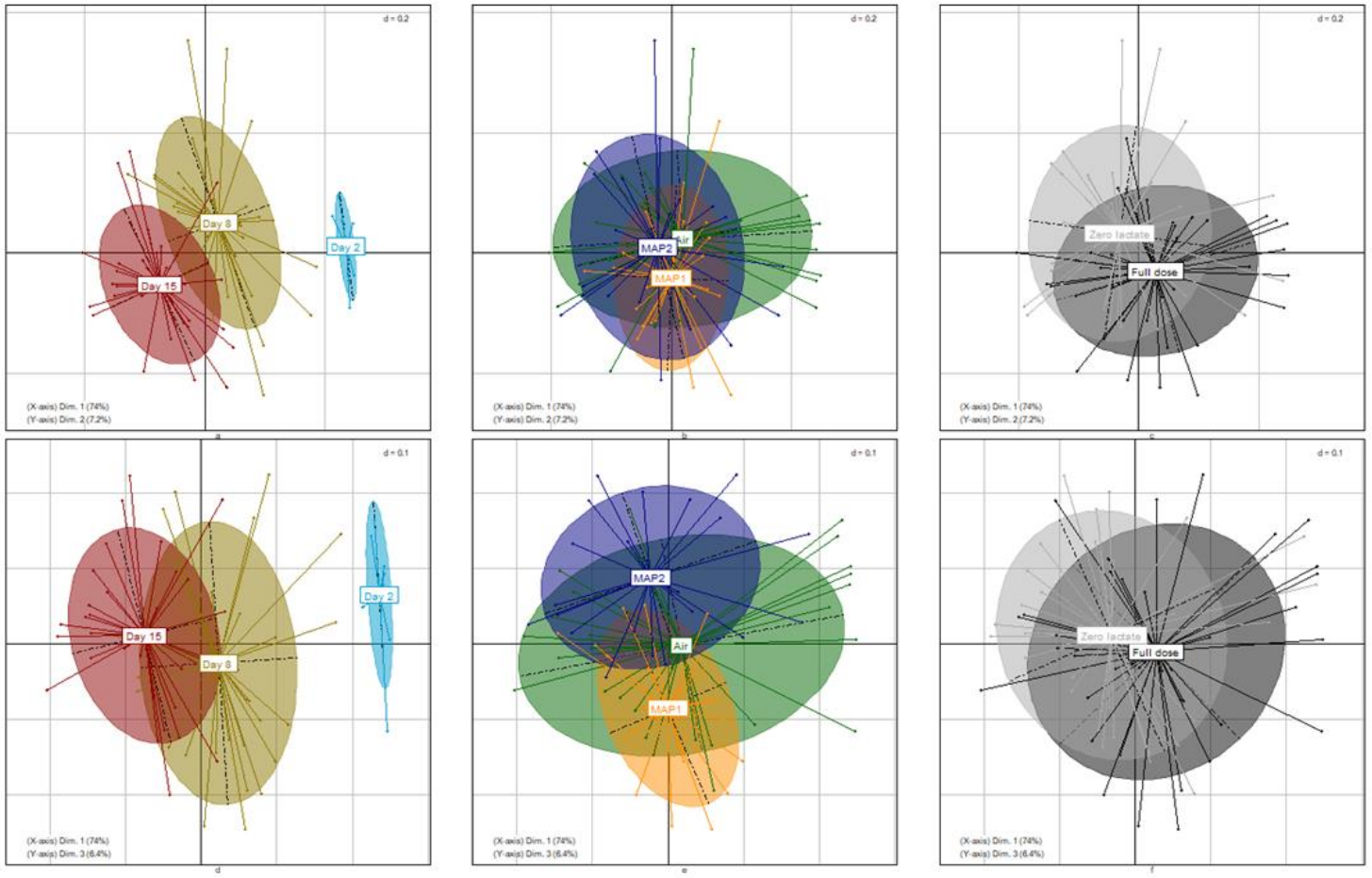


Figure VI. 2 Configuration of the products according to the three first dimensions (with their relative importance) of Path-ComDim analysis depending on different factors in the experimental design: sampling time, modified atmosphere packaging and lactate formulations. For the sampling time: the light blue (resp. brown, red) points correspond the sampling time of day 2 (resp. day 8 and 15). For the MAP: the green (resp. orange, navy blue) points correspond to the "Air" (resp. "MAP:70%O_2-30%CO_2", "MAP:50%CO_2-50%N_2") packaging. For the lactate formulation, the dark grey (resp. light grey) correspond to the "Full dose" (resp. "Zero lactate") formulation.

Samples structuration is plotted in Figure VI. 2 according to the above three dimensions, where samples were highlighted depending on the three factors considered in the factorial design, namely sampling time (2, 8, and 15 days), lactate formulation ("full dose" versus "zero lactate") and modified atmosphere packaging (MAP1, MAP2 and air). As shown in Figure VI. 2, spoilage-related data were strongly structured according to the storage time (Figure VI. 2a) in the first dimension (74%) and according to the type of atmosphere packaging (Figure VI. 2e) in dimension three (6.4%). The first dimension, with the highest relative importance (74%), showed a configuration where products were clearly separated by the storage time, highlighting then the dynamical nature of spoilage in turkey sausages. Table VI. 1 shows that dimension one explained important proportions of variability in the blocks "Sensory profile" (42.4%) and "Volatilome" (26.1%), suggesting that the spoilage dynamics was highlighted mainly by the production of VOCs over time leading to the evolution of off-odours. In dimension 1, the link between volatilome (26.1% explained) and sensory profile (42.4% explained) was also shown as the most important, since the contribution of the link to this dimension presented a relative salience equal to 78.3% associated with a significant LRM-LV coefficient ($p < 0.05$) (Table VI. 1). In contrast, dimension 1 only explained 5.2% of the variability in the microbiota block. Notwithstanding, the link oriented from this microbiota block to volatilome (26.1% explained) was also significant (LRM-LV p-value < 0.05), suggesting that 5.2% of the variability in the microbiota could explain the observed change in the volatilome structure.

The second dimension explained up to 9.8% in the microbiota which was the most important inertia for this block among all dimensions. Indeed, for dimension two, the inertia in microbiota was almost two-fold higher than that obtained in dimension one or three. Although dimension two did not show an important inertia for the sensory profile (less than 1% explained), the link oriented from the microbiota (9.8% explained) to the sensory profile was significant according to LRM-LV ($p < 0.05$). Nevertheless, contrarily to dimension one, dimension two (relative importance estimated at 7.2%) did not show a clear configuration of samples depending on sampling time, lactate formulation or packaging (Figure VI. 2).

The third dimension showed respectively 5.8%, 4.2% and 15.2% of inertia in each block "Microbiota", "Volatilome" and "Sensory profile". A significant importance in the link oriented from the microbiota to the volatilome was observed (LRM-LV $p < 0.05$). Figure VI. 2e also shows that the third dimension (relative importance of 6.4%) separated slightly the three initial atmospheres used for packaging and this separation seemed to be related to the gradient of initial O_2 contents (0%;20%;70%) in MAP2, Air, MAP1, respectively. Finally, the three first dimensions obtained by the Path-ComDim approach seemed not to separate samples between the two lactate formulations "Full dose" and "Zero lactate".

3.3 Relationships between specific spoilage-associated responses

With regard to the first dimension, the contribution matrices corresponding to the path directed links are plotted in the heatmap shown in Figure VI. 3. Figure VI. 3 enabled to highlight the pairwise variables which contributed the most to the determination of each dimension and then relationships between specific responses from the different blocks. These matrices appeared to be different to a large extent from one to another dimension thus giving the specific contribution profiles exhibited from the relationships between the three data blocks.

As already mentioned, the explained inertia has the highest amount for the blocks sensory profile (42.4%) and volatilome (26.1%) on the first dimension of Path-ComDim, which highlighted the link oriented from volatilome to off-odours (relative salience 78.3% and LRM-LV $p < 0.05$). The global odour of tainted meat appeared to contribute the most to this dimension with respect with its contribution value as shown in Figure VI. 3. The global odour of tainted meat was related to different molecules, especially alcohols such as ethanol or 1-propanol as well as an ester, ethyl acetate (Figure VI. 3). It is worth noting that the first dimension also highlighted the directed link from microbiota to volatilome (relative salience 4.9%, $p<0.05$). It demonstrates that the molecules 1-propanol, ethanol and ethyl acetate were linked to different LAB species such as *Lactococcus piscium, Leuconostoc gelidum* as well as several *Serratia* and *Psychrobacter* species. The species *Psychrobacter, Lc. piscium* and *L. gelidum* were also shown to be linked with other detected alcohol molecules such as 2-butanol or 3-methyl-1-butanol as well as aldehydes (2- and 3-methylbutaraldehyde) and ketone (2-butanone). The above observed links could likely correspond to different fermentation products of LAB over time. In dimension one, since the data were strongly structured depending on the sampling time (Figure VI. 2a), the fermentation process of LAB could have an important role in the spoilage dynamics. In addition to the LAB species mentioned above, contributions of several *Serratia* species were also highlighted, and the production of ethyl acetate or ethanol could correspond to fermentation by these species.

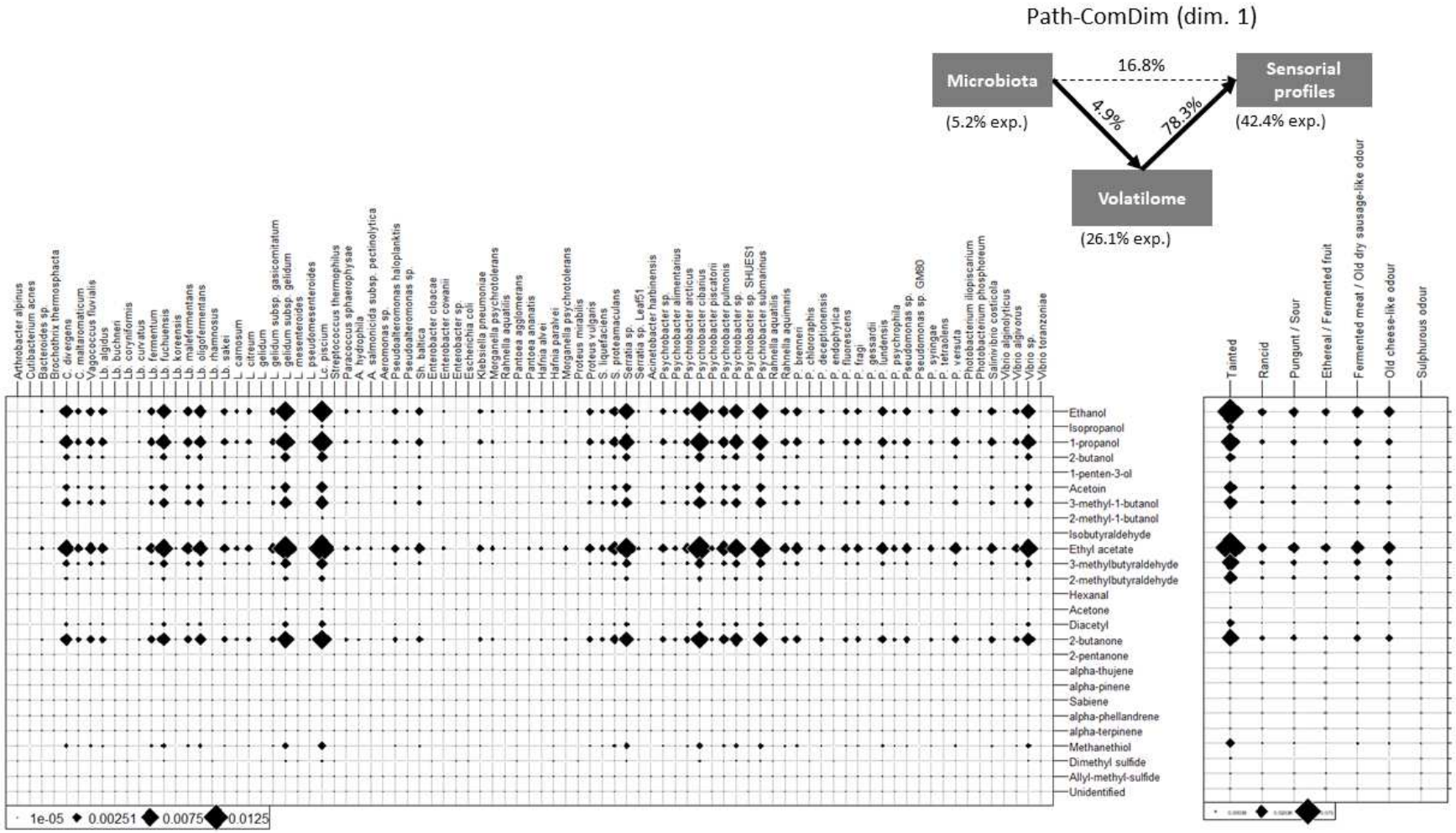


Figure VI. 3 Path-ComDim – first dimension. The upper right graph represents inertia (% exp.) of each block, relative salience (%) and significance of each link between blocks (Solid arrow: LRM-LV p-value < 0.05. Dotted arrow: LRM-LV p-value > 0.05). The lower graph contribution matrices corresponding to the links oriented from microbiota to volatilome and from volatilome to sensory profiles in dim 1. The size of the diamond-shaped points associated with a pair of responses from two blocks is proportional to the contribution values this pair to the links.

The contribution matrices associated with dimension two are plotted in Figure VI. 4. The second dimension presented the most important retrieved inertia in the microbiota composition (9.8% exp.) and the directed link from microbiota to the volatilome (14.1% exp.) had a relative salience equal to 89.9%. The variability in the Volatilome could be particularly associated with the production of acetoin, diacetyl and isopropanol, since the contribution of these molecules on this second dimension was clearly stressed (Figure VI. 4). The contribution matrices also revealed that acetoin and diacetyl were strongly associated with some LAB species such as *L. algidus, L. curvatus, Pseudomonas versuta* and *Photobacterium iliopiscarium* as well as other species like *Brochothrix thermosphacta, L. sakei* and *Psychrobacter alimentarius.* It also appeared that the accumulation of these two former molecules was mainly related to the old cheese like, tainted meat and sulphurous off-odours.

In dimension three, the sensory block (15.2% exp.) was mostly characterised by the global odour of tainted meat in view of the important contribution of this descriptor (Figure VI. 5). This profile was slightly different in comparison with the first dimension depicted above. Indeed, in dimension 3, the global odour of tainted meat was associated more with isopropanol, 2-methylbutyraldehyde and allyl-methyl-sulphide (sulphurous molecule) than with ethanol and ethyl acetate as in dimension 1. The directed link from the microbiota (5.8% exp.) to volatilome (4.2%) was also reported as significant in dimension 3 (LRM-LV $p < 0.05$). The formation of isopropanol and 2-methylbutyraldehyde appeared to be linked with the abundance of *Aeromonas salmonicida* or *L. algidus. Enterobacter sp., B. thermosphacta, Aeromonas hydrophila* and *P. phosphoreum* were also shown to be associated with these molecules. Since the third dimension was shown to separate slightly the three different packaging (Figure VI. 5 and Supplementary data Fig. VI.S 4), the changes in isopropanol, 2-methylbutyraldehyde or allyl-methyl-sulphide content might be associated with the growth of the above species depending on the used atmosphere.

Finally, the molecules α-thujene, α-pinene, sabinene, α-phellandrene and α-terpinene seemed to be not related to the microbiota composition neither to the off-odours descriptors, since their values of contribution were low whatever the dimension. This result was expected since these molecules originated from the spices mix of the sausages formulation. These spices-related molecules appeared with small variabilities across different conditions and across different time points as well, because concentration of spices mixes in sausages did not vary over time.

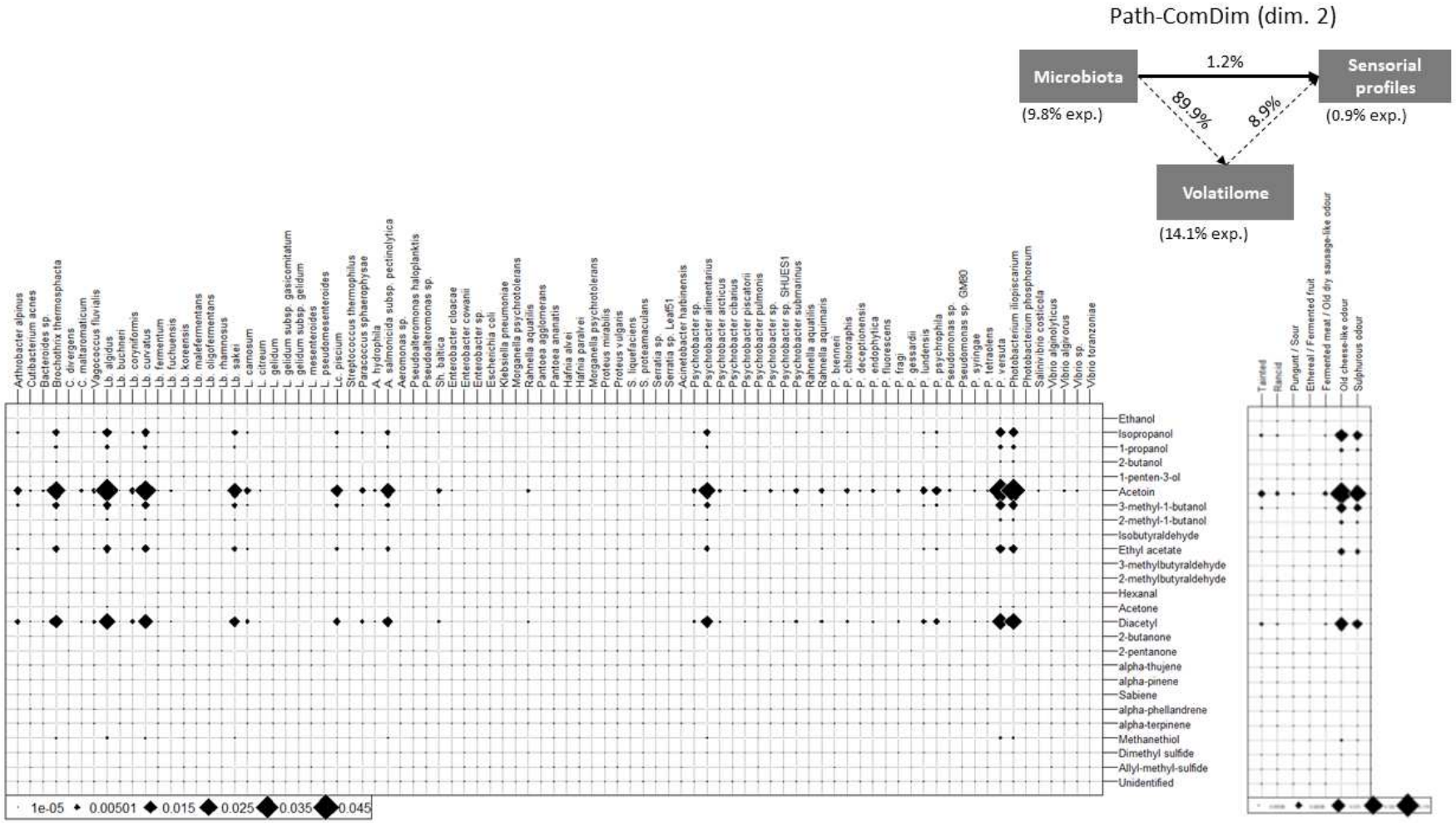


Figure VI. 4 Path-ComDim – second dimension. The upper right graph represents inertia (% exp.) of each block, relative salience (%) and significance of each link between blocks (Solid arrow: LRM-LV p-value < 0.05. Dotted arrow: LRM-LV p-value > 0.05). The lower graph contribution matrices corresponding to the links oriented from microbiota to volatilome and from volatilome to sensory profiles in dim 1. The size of the diamond-shaped points associated with a pair of responses from two blocks is proportional to the contribution values this pair to the links.

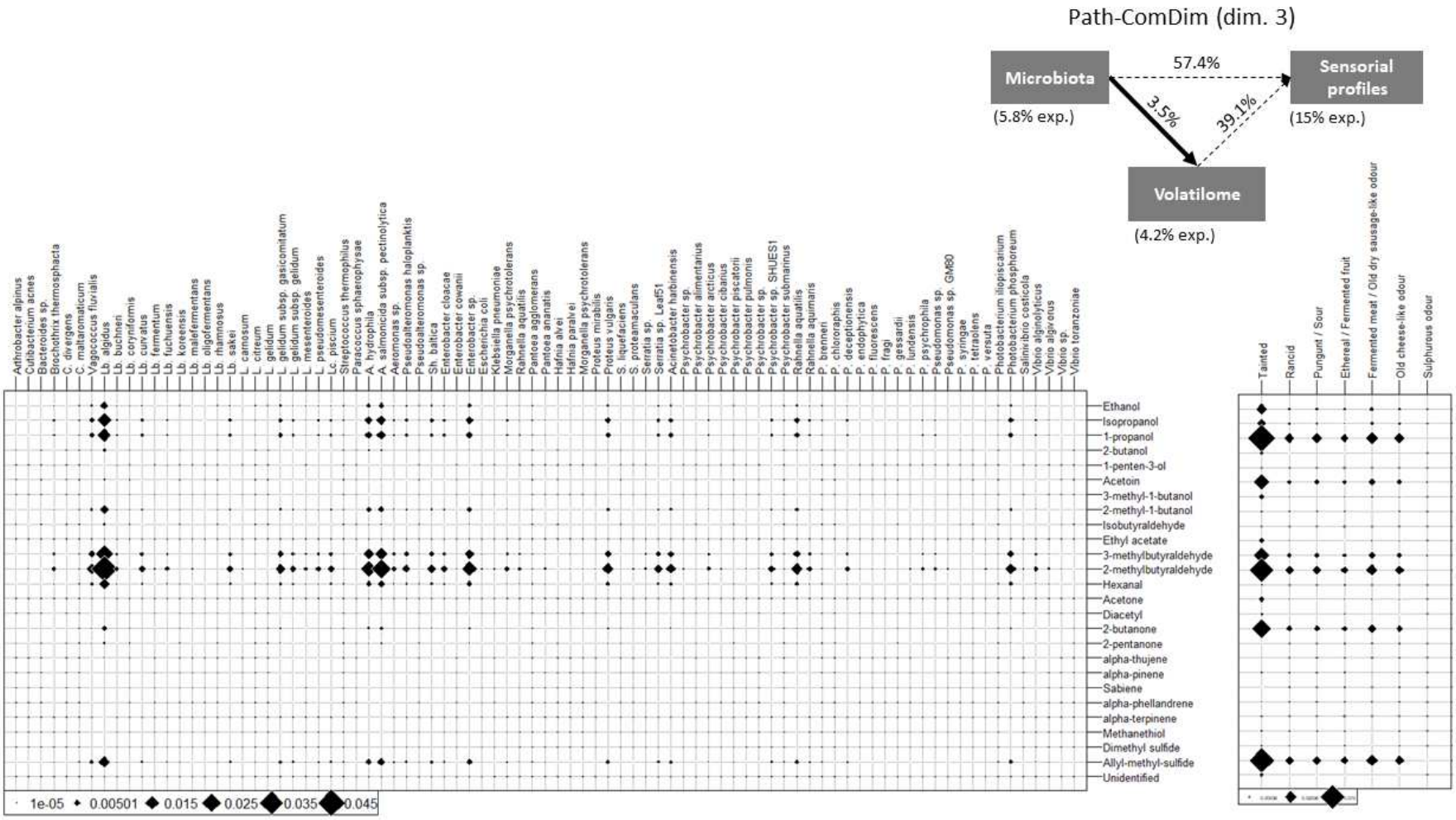


Figure VI. 5 Path-ComDim – third dimension. The upper right graph represents inertia (% exp.) of each block, relative salience (%) and significance of each link between blocks (Solid arrow: LRM-LV p-value < 0.05. Dotted arrow: LRM-LV p-value > 0.05). The lower graph contribution matrices corresponding to the links oriented from microbiota to volatilome and from volatilome to sensory profiles in dim 1. The size of the diamond-shaped points associated with a pair of responses from two blocks is proportional to the contribution values this pair to the links.

4 Discussion

Our results suggested several expected relationships between specific microbial and spoilage-related responses in comparison with the literature. Firstly, many specific alcohol molecules identified by Path-ComDim such as ethanol, butanol, 1-propanol and 3 methyl-1-butanol, have been found as some of the most common alcohols in naturally spoiled meat and in model meat systems inoculated with different spoilage microorganisms (Casaburi et al., 2015). Alcohol molecules are likely to be associated with fermentation processes by LAB as suggested in a previous work of Nordvi et al. (2007). For instance, ethanol or 3-methyl-1-butanol have been associated with LAB species such as *L. carnosum* or *C. divergens* since they have been detected in monocultures of these species in a study of Vasilopoulos et al. (2010). Ethanol is one of the end-products of LAB heterofermentation such as by *L. gelidum* or *Lb. fuchuensis* (Matamoros et al., 2009) and is a precursor of ethyl esters such as ethyl acetate, whose contribution was found similar to that of ethanol in dimension 1. *Lc. piscium* and *L. gelidum* were shown to contribute mainly to the link between the microbiota and the volatilome blocks, which is consistent with their fermentative capabilities (Jung et al., 2012, Marché et al., 2017). Ester production is also often related to the presence of *Pseudomonas fragi* through esterification of alcohols and carboxylic acids found in meat (Casaburi et al., 2015). Ethyl acetate production was indeed related to several species of *Pseudomonas* including *P. fragi* in dimension 1. 3-methyl-1-butanol has been shown to be produced from leucine catabolism (Smit et al., 2005). 1-propanol has been detected in spoiled beef samples in the presence of one or several LAB species of the genera *Lactococcus, Lactobacillus* or *Carnobacterium,* mainly *L. sakei, Lc. piscium, C. divergens and C. maltaromaticum* (Hernández-Macedo et al., 2012), species which were also present in meat samples in our study. The above relationships were observed while sausage samples were clearly separated by sampling time points. Our results mainly highlighted the importance of the fermentation process in spoilage dynamics of fresh turkey sausages. Products of fermentation like ethanol, 3-methyl-1-butanol or ethyl acetate could represent useful chemical indicators in the detection of spoilage during storage in meat products. Recently, Miks-Krajnik et al. (2016) also suggested the possibility of analysing the combination of alcohol molecules such as ethanol or 3-methyl-1-butanol with acetic acid as spoilage markers VOCs for rapid evaluation of the poultry quality using SPME-GC-MS. Regarding the off-odours, the products of fermentation identified above appeared to be linked with several off-odours as expected. For example, ethyl acetate, belonging to the ethyl esters group found in spoiled meat, can give a fruity odour in the sensory profiles of spoiled meat (Dainty & Mackey, 1992; Ercolini et al., 2010), 2-butanone can give acetone-like, ethereal, fruity, camphor odour in meat inoculated by *L. gelidum* (Jääskeläinen et al., 2013).

In the present study, relationships were also identified between LAB species and other molecules also known to be produced by fermentation (Hernández-Macedo et al., 2012), for instance 2-butanone. This ketone may be produced through the conversion of 2,3-butanediol by a diol dehydratase enzyme in some *Lactobacillus* strains (Ghiaci et al., 2014). 2,3-butanediol, diacetyl and acetoin are main end-products of homofermentative LAB like *Carnobacterium* spp. and *Lactobacillus* spp. However, acetoin, which is the ketone the most found in meat no matter the storage conditions, may also originate from the glucose catabolism of other bacteria species than LAB, such as *B. thermosphacta* under aerobic atmospheres (Casaburi et al., 2015; Pin et al., 2002). Acetoin could also come from the microbial degradation of aspartate (Ardö, 2006), as well as a consequence of heme-mediated respiration metabolism by *L. gelidum* (Pothakos et al., 2015). Acetoin and diacetyl have also been associated with *B. thermosphacta* and *Pseudomonas* spp. in natural spoiled meat under air packaging (Dainty & Mackey, 1992; La Storia et al., 2012), which is consistent with our findings. The related sensory profile especially was characterised by a cheesy off-odour unlike the fermentation-related profile previously discussed. These results were to a large extent in agreement with the literature since relationships between these molecules and the off-odour have been widely reported previously (Casaburi et al., 2015; Dainty & Mackey, 1992).

Our results also suggested possible importance of other bacterial genera such as *Serratia*, *Aeromonas* or *Psychrobacter*. *Serratia* spp. has been reported to be *Enterobacteriaceae* species commonly present on working surfaces in the meat processing or meat taken from abattoirs (Casaburi et al., 2015; Doulgeraki et al., 2011). The contamination and growth of these *Enterobacteriaceae* species during storage should correspond to possible glucose fermentation (Illeghems et al., 2015; Rafii, 2014). For instance, Illeghems et al. (2015) suggested that several *Enterobacteriaceae* species could be associated with mixed-acid fermentation by methylglyoxal pathway transforming glucose to acid lactic, as well as the production of acetate, lactate, succinate and ethanol. A recent study by Wang et al., (2017) also figured out that *S. liquefaciens* and *A. salmonicida* showed important activities on chicken meat, leading to the production of alcohol molecules such as 1-propanol or 3-methyl-1-propanol. Regarding *Psychrobacter* spp., to our knowledge, there is little information concerning their possible spoilage-associated metabolisms.

The major novelties of our data analysis approach consisted in including into the model input assumptions of oriented connections between data blocks while taking into account the particularities in each block by appropriate statistical pre-treatment. These assumptions could then be tested for a better biological interpretation of relationships between blocks. Such assumption tests could identify significant patterns of specific spoilage-related relationships complementary to other unsupervised approaches such as correlation analyses. In the present study, correlations were also evaluated beforehand between responses from different blocks of pre-treated data using Spearman rank sum correlation, independently

with Path-ComDim (Supplementary data, Fig. VI.S 2, Fig. VI.S 3). The correlations profiles between blocks did not clearly show particular links from one or several specific responses to others. Spearman correlation based on the rank sum correlation is generally useful in cases where relationships between variables are non-linear (as for microbiota composition, production of metabolites, etc.). Path-ComDim enabled to take into account additional differences in variabilities between responses, unconsidered in Spearman correlation, since the approach was multidimensional with a global optimisation criterion based on squared covariance. Therefore, among a large number of responses highly correlated together, Path-ComDim may shed light to more specific relationships from one response to another by including variabilities in the model.

Globally, the Path-ComDim approach enabled, from three heterogeneous complex data blocks, to identify potential bacterial metabolic pathways involved in spoilage dynamic of turkey sausages (such as fermentation, respiration or protein degradation) by specific bacterial species leading to outcome sensory profiles. The sensory and volatilome blocks were globally consistent and well explained by the data analysis approach, thank to which several identified volatile organic compounds could be considered as chemical indicators for spoilage detection. The limited inertia in the microbiota structure could probably be due to the important number of variables in this block compared with the others together with a higher dimensionality of the block. Another possible problem for exploring microbiota composition was indeed the complexity in the within-block dynamics of bacterial community, especially concerning between-species interactions, some species possibly using substrates produced by other species. Complexity in the integration of microbiota and volatilome data could also be translated by the fact that different bacterial species could have similar metabolic pathways, leading to similar end-products, and should probably then contribute to the formation of the volatilome. However, as highlighted by our results, once the latter was structured, the outcome off-odour profiles could be well explained.

Meat spoilage is known as a complex process and could be associated with several factors and kind of measurements such as the meat matrices, initial conditions of preservation techniques, microbiological mechanisms, physicochemical responses as well as outcome sensory profiles. Studying such a complex phenomenon involves the handling of a large scale complex heterogeneous dataset and a priori assumptions to be evaluated. In this framework, Path-ComDim could be a promising multi-block data analysis approach since it provides not only the global structuration of the whole dataset but also the most important relationships between specific variables.

Funding sources

This work was funded by the French Research National Agency (ANR) REDLOSSES project (ANR-16-CE21-0006).

Acknowledgments

The authors are grateful to collaborators of the REDLOSSES consortium for their helpful comments and expertise for the experiment design: Émilie Cauchie, Marie-Christine Champomier-Vergès, Carole Feurer, Rodérick Gohier, Emmanuel Jaffrès and Sabine Jeuge.

Conflicts of interest: none

Authors contribution

- Conceptualization: S. Guillou; N.-D.M. Luong; V. Cariou; J.-M. Membré; L. Coroller
- Data curation: M.-H. Desmonts, S. Guillou, N.-D.M. Luong, S. Poirier, D. Werner, M. Zagorec;
- Formal analysis: V. Cariou, S. Guillou, N.-D.M. Luong;
- Funding acquisition: M. Zagorec;
- Methodology: V. Cariou, S. Guillou, N.-D.M. Luong;
- Project administration: S. Guillou, M. Zagorec;
- Software: V. Cariou, N.-D.M. Luong;
- Supervision: V. Cariou, L. Coroller, S. Guillou, J.-M. Membré;
- Visualisation: N.-D.M. Luong;
- Writing – original draft: N.-D.M. Luong;
- Writing – review and editing: V. Cariou, S. Chaillou, L. Coroller, M.-H. Desmonts, S. Guillou, J.-M. Membré, D. Werner, M. Zagorec.

Colour should be used for all figures in print.

Appendices

A – Data pre-treatment of the block

A.1 Microbiota

Only raw data associated with microbiota in turkey sausages were considered from the data paper published by Poirier et al., (2020). These data could present a high number of zero or very low counts in several OTUs possibly when (i) the latter were observed exclusively in pork samples and/or (ii) because of the very low counts of non-dominant bacterial species as well as their low occurrence frequency across all samples. Two criteria were then considered for low count data removal. Firstly, only OTUs with non-zero counts in at least 20% of the total number of samples were kept, as previously done by Bouju-Albert, Pilet, & Guillou (2017). Afterwards, only OTUs with a total count higher than 0.05% of the total counts from all OTUs across all samples were kept (arbitrary threshold). This resulted in a decrease of the total number of OTUs from 150 to 86. For each considered sample, a normalisation by Centered Log Ratio transformation (CLR) was performed as suggested by Bodein et al. (2019).

A.2 Sensory profiles

The entire procedure for sensory analysis was carried out according to the Quantitative Descriptive Analysis (QDA) by a panel of 15 persons ($n_{panel} = 15$). The descriptors used for the analyses were proposed and preliminarily selected by the panel in several steps. Firstly, each panellist proposed potential off-odour descriptors after sausage samples sniffing, and 59 descriptors in total were gathered. These descriptors were afterwards scored by the panellists during separated sessions. Variances analyses (ANOVA) were then performed on these scores in order to select discriminating descriptors against products and retained then 19 descriptors. A second evaluation using these 19 descriptors was carried out and retained finally 7 descriptors using variances analyses as previously done as well as expert elicitation. Panellists were eventually trained on the 7 retained descriptors: tainted meat odour (global spoilage odour), rancid, sour/pungent, ethereal/ fermented fruit, fermented meat/ old dry sausage-like, old cheese-like and sulphurous odour. For these last six attributes, the subjects validated for each of them a chemical reference (nature and concentration) or food reference among an initial choice of 15 references with 1 to 5 possible concentrations. Panellists were trained to recognized the different odours and to rate their intensity.

After training sessions, the sensory profile was carried out for evaluating the 7 retained descriptors on 80 products ($N = 80$) across all two conditions of lactate, 3 MAP and 3 time points. Each product (randomly chosen during different analysis sessions) was evaluated by at least 12 panellists. All panellists did not evaluate the same number and type of products. Firstly, data with off-odour score evaluated by the three 'less participating' panellists mentioned above were removed from the raw dataset. The remaining data were then divided into 12 subsets corresponding to 12 remaining 'relevant' panellists ($N_{panellists} = 12$), the aim was then to determine the consensus profile associated with the panel by weighting each remaining panellist according to his degree of agreement with the panel. The STATIS method was used (Llobell et al., 2018; Pizarro et al., 2013) to seek the best consensus by weighting each assessor scores with a weight, denoted $\alpha_k (k = 1, \dots N_{panellists})$. These

weights were obtained by computing the first eigenvector of the matrix of the RV coefficients between the 12 data subsets (RV coefficient between two subsets can be interpreted as generalized correlation between the associated panellist matrix). The STATIS method required that the scores need to be measured on exactly the same products (Llobell et al., 2018). In our case, only 40 products were commonly evaluated by the 12 relevant panellists ($N'_{prod} = 40$). Our strategy was then to firstly perform the STATIS method on data associated with these 40 products in order to determine the weights $\alpha_k (k = 1, .., N_{panellists})$ corresponding to each panelist, and afterwards take into account these weights in the calculation of the global score for each product among the initial 80 products (which were not necessarily evaluated by the same panellists).

The STATIS method applied in the 12 data subsets concerning 40 products, denoted $V_{k,k=1,\ldots,N\_panellists)}$ was performed using the *R* package *ClustBlock* (Llobell et al., 2019) to obtain the computed weights $\alpha_k (k = 1, \ldots, N_{panellists})$ associated with the 12 panelists. STATIS also computed the inertia of each panelists matrix by calculating the corresponding Frobenius norm, denoted $F_k (k = 1, \ldots, N_{panellists})$, which should be taken into account to deal with the between-panelists scale factor since the score range effectively used might be different from one panellist to another. Considering the panelist k, the corresponding Frobenius norm is given by:

$$F_k = \sqrt{\sum_q \sum_r w_{qr(k)}^2}, \qquad (Eq.VI.1)$$

where $w_{qr(k)}$ is the $(q,r)^{th}$ entry of the matrix $W_k = V_k V_k^T$.

The calculation of a global score of each product among the initial 80 products should take into account the fact that all products were not necessarily evaluated by $N_{panellists} = 12$. Indeed, the product i was rather evaluated by $N_{panellists(i)} \leq 12$, and the panelists could be different from one product to another. In the raw data, the score for the off-odour descriptors $j = 1, \ldots, p_s$ $(p_s = 7)$ of the product $i = 1, \ldots, N$ $(N = 80)$ evaluated by the panelist $k = 1, \ldots, N_{panellists(i)}$ was denoted $s_{jk(i)}$. Hence, for the product i, the weighted average global score for the off-odour descriptor j $(j = 1, \ldots, p_s, p_s = 7)$ evaluated by $N_{panellists(i)}$persons with the corresponding weights $(\alpha_{1(i)}, \ldots, \alpha_{N_{panellists(i)}})$ and inertia, denoted $gs_{j(i)}$ is given by:

$$gs_{j(i)} = \frac{\sum_{k=1}^{N_{panellists(i)}} \frac{\alpha_{k(i)}}{F_{k(i)}} * s_{jk(i)}}{\sum_{k}^{N_{panellists(i)}} \alpha_{k(i)}}. \qquad (Eq.VI.2)$$

The global score for all descriptors across all the 80 products were then structured in the block "Sensory profile" (dim $N * P_s, N = 80, P_s = 7$).

B – Details for Path-ComDim approach

Let us denote X_1, X_2, X_3 the data blocks "Microbiota", "Volatilome" and "Sensory profile" measured on the same products, respectively. The given directed links between K blocks $(K = 3)$ were encoded using the path matrix $\Delta_{K,K} = (\delta_{kl})$ where $\delta_{kl} = 1$ if we considered a directed link from X_k to X_l and $\delta_{kl} = 0$ otherwise. The Path-ComDim approach determines, in subsequent dimensions $d = 1,2, \ldots,$

common components $t_{(d)}$ and $u_{(d)}$ together with the saliences $\lambda_{kl(d)}$ associated with the links going from the block X_k to X_l, by maximising the quantity:

$$C'_{(d)} = \sum_{k=1}^{K}\sum_{l=1}^{K} \delta_{kl} cov^2\left(t_{k(d)}, u_{l(d)}\right), \qquad (Eq.VI.3)$$

where cov stands for the covariance, $t_{k(d)} = X_k X_k^T t_{(d)}$ and $u_{l(d)} = X_l X_l^T u_{(d)}$ are denoted as latent variables (LV) associated respectively with the blocks X_k and X_l connected by a directed link from X_k to X_l. (V. Cariou et al., 2019; Véronique Cariou et al., 2018)

The strength of the relationships between blocks in the dimension d of Path-ComDim was evaluated by computing the absolute value of the obtained saliences, $\lambda_{kl(d)}$. The importance of the subsequent dimensions $d = 1,2,...$, denoted $I_{a(d)}$ was expressed by the quantities $I_{a(d)} = \sum_{k=1}^{K}\sum_{l=1}^{K} \delta_{kl}|\lambda_{kl(d)}|$. The relative importance of each dimension (expressed in %), was given by $I_{r(d)} = I_{a(d)} / \sum_{d=1,2...} I_{a(d)}$. In the present study, we fixed a total number of 10 subsequent dimensions for the Path-ComDim algorithm. For each dimension, the relative contribution of each link (oriented from X_k to X_l) to the determination of the common components was given by the relative saliences (expressed in %). The significance of each link was evaluated by Linear Regression Models between latent variables determined by Path-ComDim deter (LRM-LV) (model without intercept since latent variables are centred) as well as by Partial Least Square regression between Latent Variables (PLS-LV) $u_{l(d)} \sim t_{k(d)}$. The significance was then discussed based on the p-value associated with LRM-LV coefficients and the coefficient of determination R2 of the PLS model.

Considering the dimension d, for each link oriented from the block X_k to X_l, the contribution matrix, denoted $A_{kl(d)}$ for evaluating the contribution by each pair of variables from X_k and X_l to the determination of the common components of Path-ComDim (with dimensions $p_k * p_l$ corresponding to the number of variables of X_k and X_l) was determined by computing the following quantities:

$$L_{kl(d)} = \lambda_{kl(d)} t_{(d)} u_{(d)}^T, \qquad (Eq.VI.4)$$

$$V_{kl(d)} = \begin{pmatrix} v_{11} & \cdots & v_{1p_l} \\ \vdots & v_{ij} & \vdots \\ v_{p_k1} & \cdots & v_{p_kp_l} \end{pmatrix} = X_k^T L_{kl(d)} X_l, \qquad (Eq.VI.5)$$

where $i = 1 \dots p_k, j = 1 \dots p_l$. Finally, the entries a_{ij} at the i-th row and j-th column of the contribution matrix $A_{kl(d)}$ were computed by $a_{ij} = v_{ij}^2 / (\sum_i \sum_j v_{ij}^2)$.

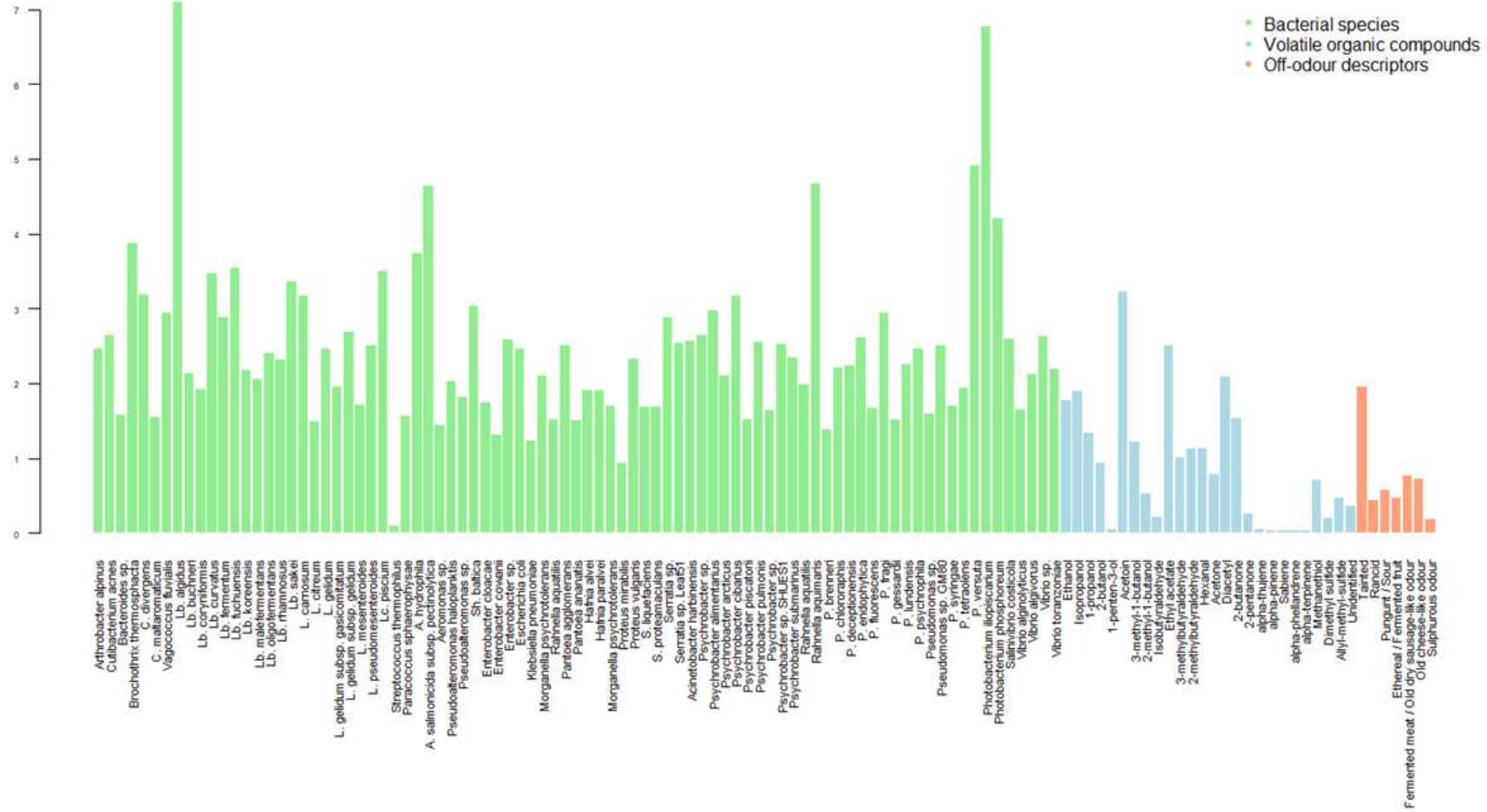


Fig. VI.S 1 Variance of each response in the pre-treated dataset as input of Path-ComDim.

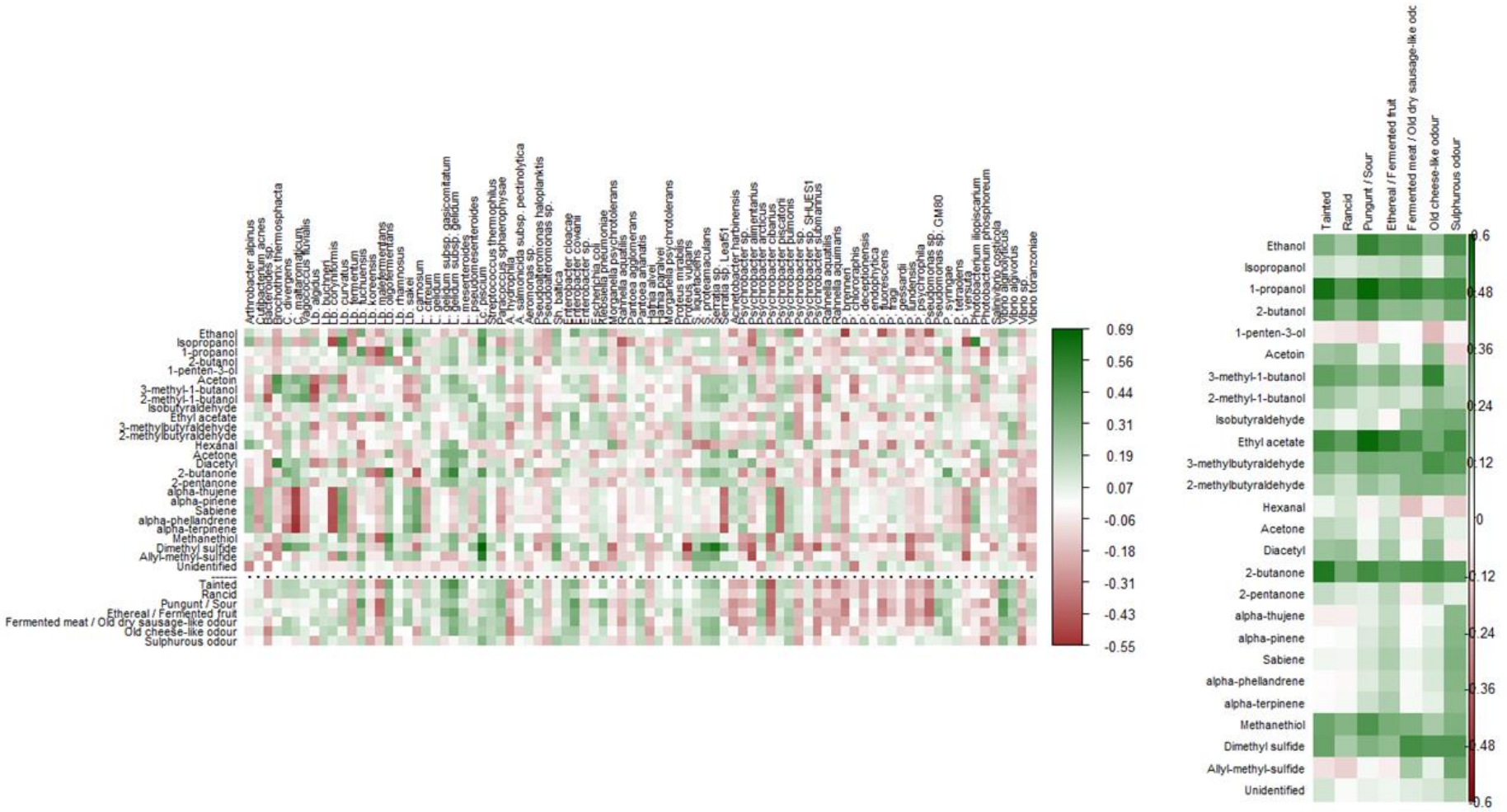


Fig. VI.S 2 Spearman rank sum correlation between responses from different blocks (Inter-block correlation). Left graph: correlation between microbiota and volatilome responses (upper graph), then between microbiota and sensory descriptors (lower graph). Right graph: correlation between volatilome and sensory profile responses.

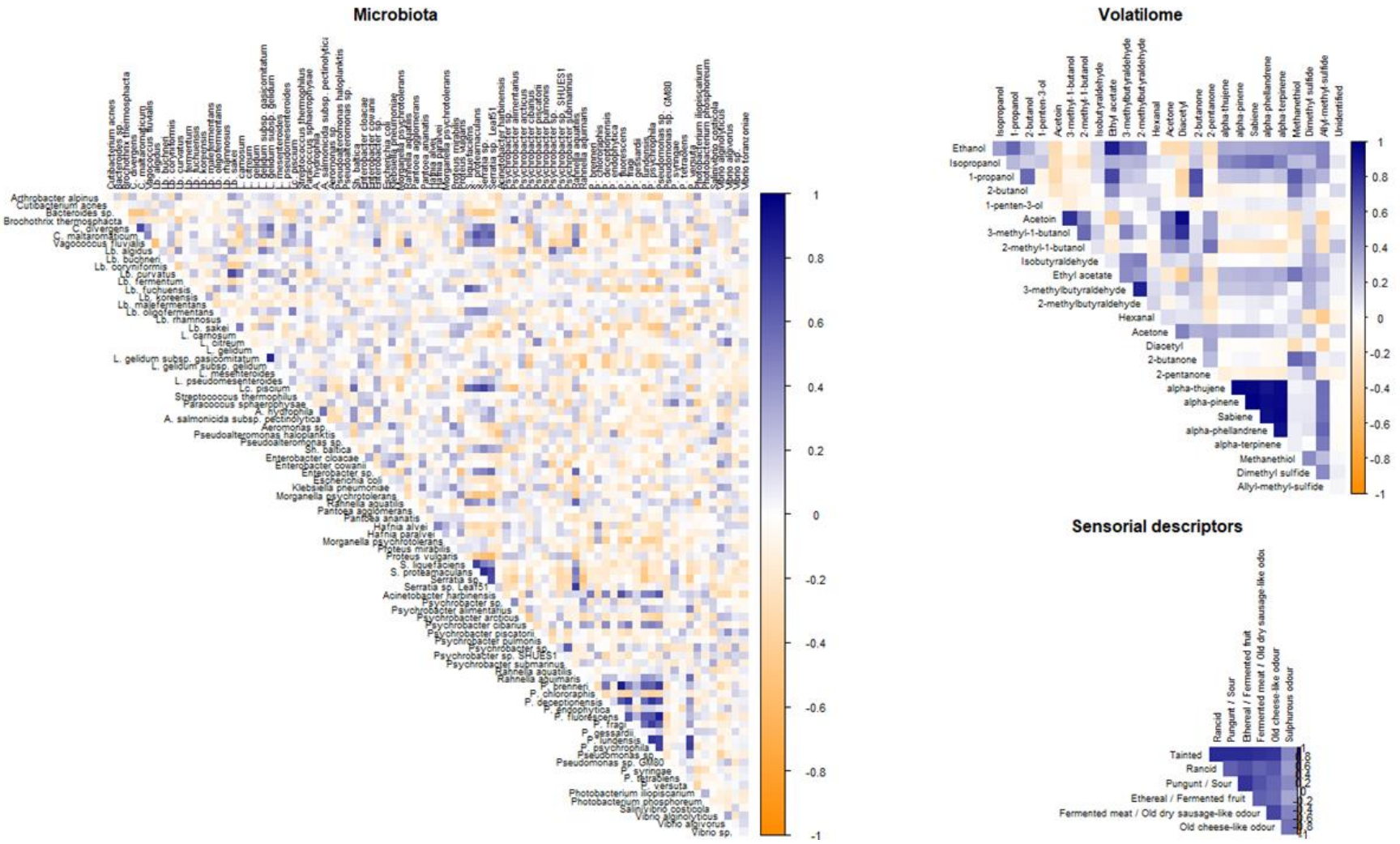


Fig. VI.S 3 Spearman rank sum correlation between responses within each block (Intra-block correlation). Left graph: correlation between different microbiota responses. Top right graph: correlation between different volatilome responses. Bottom right graph: correlation between different sensory profile responses.

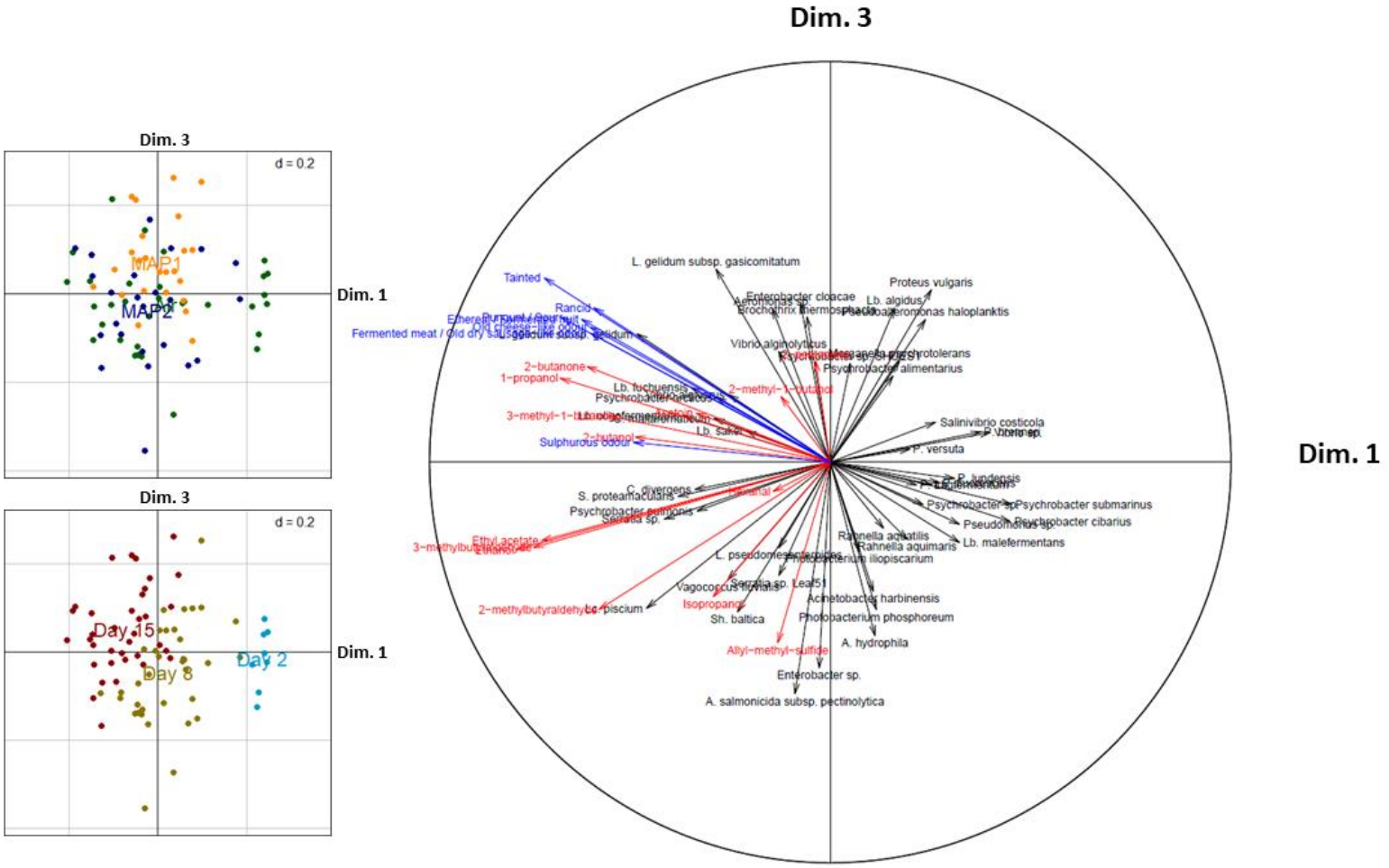


Fig. VI.S 4(Left graph) Configuration of the products according to the first and third dimensions of Path-ComDim depending on the factors Atmosphere (Air packaging, MAP1:70%O_2-30%CO_2, 50%CO_2-50%N_2) and Sampling time (Day 2, Day 8 and Day 15). (Right graph) Correlation circle associated with the measured variables. Only variables with important relative contribution more than 0.95 to the first three dimensions were plotted in the correlation circle. The black (resp. red and blue) arrows correspond to responses from the block Microbiota (resp. Volatilome and Sensory profiles).

Conclusion du chapitre

Cette partie du travail consistait à identifier, via une étape d'intégration de données issues de différents blocs de réponses mesurées, des relations spécifiques entre la composition du microbiote, le volatilome et les profils sensoriels olfactifs des saucisses de volaille. Une approche d'intégration de données Path-ComDim a été utilisée, et les relations entre les trois blocs ont été définies *a priori* de manière à ce que les composés volatils produits soient supposés être à la fois la conséquence de l'évolution du microbiote et la cause de la production de différents types d'odeurs d'altération, et que ces derniers soient également causés par le microbiote. L'enjeu de cette partie était de déterminer comment l'ensemble des données étaient structuré après l'intégration par les dimensions de Path-ComDim, et d'identifier les réponses spécifiques qui contribuaient au mieux à la détermination de ces dimensions.

Les résultats ont montré que les dimensions déterminées par l'approche Path-ComDim ont très bien expliqué les structures des blocs « Sensoriels » et « Volatilome » ainsi que le lien orienté du « Volatilome » vers les profils « Sensoriels ». La première dimension de Path-ComDim expliquant au mieux les données de ces deux blocs a clairement structuré l'ensemble des données en fonction du temps de stockage, confirmant ainsi le caractère dynamique du phénomène d'altération. Les variations de l'ensemble des données ont également été observées en fonction des trois atmosphères protectrices utilisées. Quant à la structure du microbiote, ce dernier a présenté des inerties plutôt faibles (moins de 10% expliqué par les premières dimensions de Path-ComDim), suggérant une complexité dans la variation intra-écosystème ainsi qu'une difficulté majeure dans l'explication du microbiote. Les liens identifiés par Path-ComDim entre certaines espèces bactériennes, la production des composés volatils et les descripteurs olfactifs étaient cohérents avec la littérature. Par exemple, il a été observé via Path-ComDim que l'odeur globale de la viande avariée était fortement liée à différentes molécules comme l'éthanol, le propan-1-ol ou encore l'acétate d'éthyle, dont la production se faisait probablement par des processus de fermentation de différentes espèces de bactéries lactiques comme *Lc. Piscium* ou *L.gelidum*, ou par d'autres voies métaboliques des espèces de *Serratia* ou *Psychrobacter*. La production d'acetoïne ou de diacétyle était associée à une odeur « beurrée, fromagée » ou une odeur « soufrée ».

Dans le cadre de ce projet, l'approche Path-ComDim a été utilisée pour la première fois dans une étude de l'altération microbiologique de la viande fraîche et a montré plusieurs avantages, notamment par la détermination des liens de causalité spécifiques entre les différentes réponses mesurées avec un chemin du modèle défini *a priori* par hypothèse d'expert. Grâce à cette approche, nous avons pu identifier la structure des données en tenant compte du jeu de données dans sa globalité et expliquer ainsi une grande part de variabilité dans plusieurs blocs (notamment volatilome et sensoriel). Les matrices de contribution

déterminées pour chaque dimension de Path-ComDim avec la prise en compte de la variance de chaque réponse ont également révélé des liens plus spécifiques entre les blocs, ce qui a représenté un grand avantage complémentaire à une étude de corrélation par exemple, qui ne montrait uniquement que les tendances d'évolution similaires ou différentes entre réponses.

L'approche Path-ComDim a rencontré toutefois des difficultés dans l'explication du bloc microbiote, très probablement en raison du grand nombre de variables dans ce bloc par rapport au nombre d'échantillons et au nombre de variables dans d'autres blocs. Cette difficulté pourrait être également liée à dynamique de variation du microbiote au sein d'un produit alimentaire et la complexité des mécanismes sous-jacent. Nous pouvons évoquer par exemple l'existence d'interactions (de mécanismes inconnus) entre différentes espèces bactériennes dans la communauté qui aurait un impact sur l'évolution de la composition du microbiote. Enfin, une autre difficulté rencontrée dans cette démarche d'intégration de données de microbiote et du volatilome serait liée au fait que différentes espèces bactériennes peuvent produire les mêmes composés organiques (en raison de leurs voies métaboliques similaires), et ainsi contribuer de manière inconnue à la structure globale du volatilome et des descripteurs olfactifs.

Discussion générale

1 Synthèse des stratégies d'analyse et résultats principaux

Ce projet de thèse sur le développement d'approches d'analyses statistiques et de modélisation pour la compréhension du phénomène d'altération des produits carnés a été réalisée en trois phases d'études principales (1) une revue bibliographique afin de réaliser une synthèse des méthodes d'analyses et des types de réponses collectées lors des études de l'altération de différents types de produits carnés, (2) une phase d'acquisition de données associées à l'altération collectées sur deux types de viandes (saucisses de volaille et de porc) choisis comme cas d'étude et (3) le développement d'approches de modélisation et d'analyses statistiques. Cette dernière phase a été réalisée en différentes étapes avec des modèles des plus simples aux plus complexes adaptés à la question de chaque étape : (i) d'un point de vue pratique en industrie, comment une stratégie de préservation peut-elle influencer les réponses couramment utilisées pour le suivi de l'altération pendant le stockage ; (ii) est-il possible de formaliser cette influence sur les réponses courantes dans une optique de proposer un outil pour la prévision de l'altération (iii) ces réponses simples suffisent-elles pour cette prévision et sinon quels(s) type(s) de données à intégrer et sur quels aspects (sensoriels, physicochimiques ou microbiologiques) ? (iv) comment faire un lien entre l'ensemble des données pour mieux comprendre le phénomène d'altération ? Une synthèse de ces étapes de modélisation est présentée dans les sous-parties ci-dessous.

1.1 Effet du lactate de potassium et de l'atmosphère protectrice sur les différentes mesures courantes

L'objectif de cette étape était d'étudier l'influence de la formulation en lactate de potassium et de l'atmosphère protectrice sur différentes mesures courantes de l'altération des deux types de saucisses considérés au cours du temps : le dénombrement des bactéries aérobies mésophiles totales et des bactéries lactiques, les mesures de couleurs L* a* b*, le score sensoriel caractérisé par la proportion du panel sensoriel percevant une odeur d'altération, le pH ainsi que la détermination de deux défauts visuels (exsudat et gonflement des barquettes). Pour ce faire, un modèle linéaire à effet mixte a été utilisé tout en prenant en compte l'effet aléatoire du lot de production. Les résultats ont montré, pour les deux types de viande, un effet significatif du temps de stockage sur toutes les réponses considérées, confirmant ainsi le caractère dynamique du phénomène d'altération. Les effets du lactate et de l'atmosphère étaient différents sur ces réponses entre le porc et la volaille. Pour les saucisses de volaille, l'ajout du lactate pouvait limiter notamment la perception d'odeurs d'altération et la réduction du pH, en revanche, pour le porc, le lactate présentait peu d'effets sur les réponses étudiées jusqu'ici. En ce qui concerne l'effet du conditionnement (1) pour

les saucisses de volaille, par rapport à un conditionnement sous air : l'utilisation de l'atmosphère MAP1 :70%O_2-30%CO_2 semblait limiter l'acidification, n'entrainait aucun gonflement des barquettes et affectait considérablement la couleur (tendance jaunie-brunie) ; l'atmosphère MAP2 :50%CO_2-50%N_2 pouvait réduire la perception d'odeurs mais accélérait la diminution du pH. (2) pour les saucisses de porc, l'utilisation de l'atmosphère MAP1 (resp. MAP2) pourrait faire diminuer (resp. augmenter) légèrement la perception d'odeurs mais avait peu d'influence sur l'acidification. Enfin, pour chaque type de viande, les réponses étudiées ont présenté une forte corrélation entre elles.

1.2 Modélisation de la dynamique l'acidification de saucisses de volaille sous l'influence du lactate et de l'atmosphère

Après la première d'analyse exploratoire des influences du lactate et de l'atmosphère protectrice sur différentes réponses d'altération courante, nous avons cherché ensuite à modéliser la dynamique d'une réponse d'altération au cours du stockage. Cette partie consistait donc en une étude focalisée sur l'évolution du pH des saucisses de volaille au cours du stockage réfrigéré. Un modèle dynamique hiérarchique bayésien a été développé pour décrire cette évolution en deux phases acidification-stabilisation. L'ajustement du modèle aux données expérimentales a montré que l'utilisation de la formulation en lactate permettait de réduire la vitesse d'acidification quel que soit le type d'atmosphère protectrice utilisée pour le conditionnement. En cohérence avec la première phase d'étude exploratoire, la phase d'acidification était la plus lente avec un conditionnement sous MAP 70%O_2-30%CO_2 et en revanche, la plus rapide avec un conditionnement sous MAP 50%CO_2-50%N_2. Ces résultats ont montré des effets du lactate et de l'atmosphère protectrice simplement avec la mesure du pH, qui représentait un moyen intéressant (rapide et peu couteux) pour évaluer l'influence de ces stratégies de préservation sur l'altération. Les résultats ont également montré que la variabilité au temps initial représentait une importante part de la variabilité dans l'évolution du pH tout au long du stockage.

1.3 Evaluation de la capacité de prédiction de la dynamique de l'altération en fonction des conditions initiales

L'objectif de cette partie était d'évaluer, pour les saucisses de volaille, la possibilité d'expliquer la dynamique de l'altération par l'ensemble des conditions microbiologiques et physicochimiques mesurées au temps initial (début du stockage). Cette dynamique a été décrite par l'évolution de la perception d'odeurs par un jury d'analyses sensorielles. Pour ce faire, trois approches de régression couplées à un modèle dynamique non linéaire ont été utilisées et comparées. Les résultats ont souligné l'importance d'intégrer la composition du microbiote dans l'explication de la dynamique de l'altération. L'étude a fait le lien entre le

rôle du CO_2 dans l'atmosphère protectrice et de la formulation en lactate et l'évolution de la perception d'odeurs, caractérisée par l'indicateur « demi-altération » (la moitié du jury considère que le produit est altéré). Par contre, la capacité prédictive des modèles développés n'était pas satisfaisante. Cette phase d'étude a suggéré que la prise en compte des conditions initiales n'était pas suffisante pour prédire la dynamique de l'altération, et que la compréhension de l'altération nécessitait l'intégration des données issues d'autres blocs de données collectées tout au long du stockage.

1.4 Lien entre le microbiote, le volatilome et les profils sensoriels

Cette dernière partie d'étude visait à identifier les relations de causalité entre le microbiote, la structure du volatilome et les profils sensoriels tout au long du stockage par une approche d'intégration de données Path-ComDim. L'analyse a de nouveau confirmé le caractère dynamique de l'altération de saucisses de volaille, notamment par la séparation observée des échantillons en fonction des temps de stockage par les dimensions déterminées par l'approche. L'approche Path-ComDim a bien expliqué les blocs de « profils sensoriels » et « volatilome » ainsi que les liens importants entre ces blocs. Différentes relations spécifiques de l'altération ont été identifiées et des voies métaboliques spécifiques à plusieurs espèces menant à la formation de différents types de composés volatils ainsi que d'odeurs d'altération ont été identifiées. Cependant, la part de la variabilité expliquée par la composition du microbiote s'est avéré faible (faible inertie obtenue) probablement à cause du grand nombre de variables dans ce bloc ainsi que des variations intra-bloc difficiles à modéliser (interactions inconnues entre espèces)

2 Discussion générale et perspectives

Dans cette partie, le développement des méthodologies de modélisation et d'analyses de données poursuivi pendant cette thèse afin de mieux comprendre le phénomène de l'altération de la viande sera discuté en revenant sur trois aspects majeurs : 1) l'altération de la viande sous l'influence des stratégies de préservation est un phénomène complexe, 2) l'apport de la modélisation à la compréhension de l'altération, 3) les difficultés majeures rencontrées lors de l'étude de l'altération.

2.1 L'altération de la viande fraîche est un phénomène complexe

La cause majeure de l'altération des produits carnés est liée à la contamination par des microorganismes et à leur développement pendant le stockage, l'étude de l'altération n'est

toutefois **pas nécessairement exclusivement de nature microbiologique**. Globalement, l'altération est mesurée historiquement dans la littérature de diverses manières avec différents types d'analyses expérimentales comme recensé dans notre revue bibliographique. L'altération est un phénomène complexe car elle peut être considérée sous différents points de vue : chimique, microbiologique ou simplement sensoriel (point de vue proche du consommateur), en fonction de la question de recherche de l'étude. Les types de réponses et les méthodes de modélisation choisies pour l'étude peuvent donc être très variés et nécessitent une stratégie d'analyse adaptée. Par exemple, une étude visant principalement à comparer l'évolution des apparences visuelles d'un produit carné sous l'influence de deux modes de conditionnement différents en vue d'une utilisation en industrie ne nécessite pas forcément l'évaluation de sa qualité microbiologique, ni d'aller plus loin dans la caractérisation des profils biochimiques et/ou de l'écosystème microbien. Pour cette raison, dans ce projet, pour la description microbiologique de l'altération, nous avons opté pour une stratégie d'analyse partant des mesures et des méthodes les plus simples et complexifié ensuite nos approches, en fonction de nos questions de recherches, pour considérer les différents aspects de l'altération.

L'altération de la viande s'est révélée un **phénomène dynamique**. Lors de ce projet, les réponses d'altération ont été mesurées à différents temps de stockage qui étaient considérés au début comme un facteur qualitatif. Au fil des étapes d'analyse et de modélisation de ce projet, nous avons identifié l'influence notable de ce facteur « temps de stockage » sur différents types de réponses d'altération. Ce caractère dynamique a été montré sur plusieurs réponses par l'évolution tout au long du stockage : de la charge totale de bactéries aérobies mésophiles ou de bactéries lactiques, du pH, la fréquence d'apparition des défauts visuels (comme le gonflement des barquettes, l'apparition d'exsudat, les changements de couleur), la perception d'odeurs liées à l'altération des saucisses ainsi que par l'ensemble des compositions du microbiote, du volatilome et des profils olfactifs des produits. Le caractère dynamique de l'altération des saucisses identifié par nos analyses ici n'est pas vraiment surprenant, il est cohérent avec les données recensées dans la littérature par notre revue qui, au préalable, avait identifié une très grande variabilité du temps d'apparition de l'altération définie comme un indicateur temporel de l'altération (Luong et al., 2020b). Dans la littérature, la différence observée dans des réponses associées à l'altération entre différents temps d'échantillonnage a déjà été observée, par exemple dans une étude de Lorenzo and Gómez (2012) qui comparait la couleur, l'odeur et l'apparence de la viande fraîche entre différents temps de stockage, l'étude de Petrou et al. (2012) qui suivait et comparait le dénombrement de six indicateurs microbiologiques d'altération de la viande de poulet pendant plusieurs jours, etc. Ce caractère dynamique de l'altération, bien exploré dans la littérature pour différents types de produits et observé dans notre première phase d'analyse nous a conduit à nous orienter, au-delà de l'exploration des réponses d'altération de manière

qualitative, vers différentes étapes de modélisation prédictive avec des modèles cinétiques, inspirés de la microbiologie prévisionnelle, où les réponses considérées étaient formalisées en fonction du temps. Toutefois, si l'évolution de chaque réponse étudiée (comme la dégradation des qualités sensorielles et encore l'augmentation de la charge bactérienne ou la réduction du pH) en fonction du temps est confirmée et cohérente avec la littérature, il est difficile de mettre en évidence une structure temporelle dans l'ensemble de ces évolutions (par exemple l'évolution d'une réponse peut être causée par une ou plusieurs autres réponses, de manière synchrone ou décalée, etc.)

La dynamique de l'altération **diffère entre les saucisses de volaille et de porc**. En effet, notre première phase d'analyse (cf. chapitre III) a souligné d'importantes différences dans l'évolution des réponses simples en comparant ces deux types de saucisses, et suggéré que l'altération semblait apparaître plus tôt dans la volaille (dinde) que dans le porc, probablement dû à la différence de composition (pH, acides gras polyinsaturés, etc.). Pour cette raison, le choix de développer des modèles focalisés par type de viande (volaille) a été nécessaire.

Les deux **stratégies de préservation** de la viande étudiées dans cette thèse (formulation en lactate et atmosphère protectrice) ont montré, que ce soit sur la volaille ou sur le porc, **des effets différents sur les réponses d'altération étudiées.** Par exemple, en ce qui concerne les saucisses de volaille, l'ajout de lactate réduit la perception d'une odeur globale d'altération (cf. chapitres III, V) ou de la vitesse d'acidification (cf. chapitres III, IV), mais n'a pas d'effet sur l'évolution des deux indicateurs microbiologiques étudiés dans notre étude (charge totale de bactéries aérobies mésophiles ou bactéries lactiques). Le mécanisme d'action du lactate sur l'altération microbiologique des saucisses de volailles n'est donc pas encore bien compris car plusieurs hypothèses peuvent être émises. D'une part, le lactate pourrait agir sur des microorganismes potentiellement responsables de l'acidification ou de la perception d'odeurs qui n'ont pas encore été identifiés et qui n'appartiennent pas nécessairement au groupe des bactéries lactiques. D'autre part, la concentration en lactate peut également diminuer au cours du temps probablement du fait des activités métaboliques microbiennes. Cependant, les données disponibles dans le cadre de ce projet, n'ont pas permis d'aller plus loin dans les mécanismes d'action du lactate en lien avec la dynamique de l'altération. Enfin, en ce qui concerne le conditionnement, tout comme l'exemple du lactate ci-dessus, la composition du mélange gazeux dans les barquettes évolue également dans le temps en raison des métabolismes microbiens (consommation/production de O_2/CO_2). La description des réponses microbiennes en incluant les conditions de lactate et/ou O_2/CO_2 a été couramment faite dans la littérature notamment par le développement des modèles secondaires en microbiologie prévisionnelle ciblés sur quelques microorganismes. La complexité de l'altération de la viande fraîche repose finalement sur le fait que **l'on ne**

connaît pas le(s) microorganisme(s) de l'écosystème microbien responsable(s) de l'altération et que potentiellement plusieurs centaines d'espèces peuvent être impliquées.

A côté de l'effet des stratégies de préservation sur l'altération microbiologique de la viande que l'on peut considérer en pratique comme des facteurs facilement « contrôlés », la dynamique de l'altération de saucisse fraîches est également influencée par une importante variabilité biologique. Les conditions initiales et leur variabilité ont été identifiée comme une part importante dans la variation des différentes réponses d'altération au cours du temps (cf. chapitre III, IV, V). Par exemple, la composition du microbiote initial par génère une source de variabilité aléatoire qui peut avoir des répercussions notables sur tout le processus de l'altération. Cette notion de variabilité aléatoire est d'autant plus importante dans les études effectuées à l'échelle industrielle, où les produits carnés peuvent être issus de différents lots de production, et ainsi induire des variations considérables des conditions microbiologiques ou physicochimiques au début du stockage. Enfin, au-delà de la variabilité aléatoire initiale, la dynamique de l'altération implique également des **variations intra-écosystème**, caractérisées notamment par d'éventuelles interactions entre différentes espèces ou groupes bactériens tout au long du stockage.

2.2 Apport de la modélisation à la compréhension de l'altération

Les approches de modélisation statistique et d'analyses de données développées dans ce projet de thèse ont avant tout plusieurs **finalités exploratoires**. En effet, les différentes formalisations des modèles développés (modèle à effet-mixte, modèle dynamique, modèle de régression, etc.) nous ont orientés principalement vers l'exploration (i) soit de l'influence de différents facteurs comme le temps de stockage, de la formulation en lactate ainsi que de l'atmosphère protectrice sur différents aspects physicochimiques, microbiologiques ou sensoriels, (2) soit des relations possibles entre ces aspects (comme la corrélation entre les réponses, l'identification des liens de causalité spécifiques orientés entre le microbiote et la production des composés volatils et les profils olfactifs, etc.). La stratégie d'analyse en plusieurs étapes a permis d'avoir une vision complémentaire sur le phénomène d'altération. Dans cette thèse, nous avons notamment pu identifier clairement l'influence de l'atmosphère et du lactate sur les différentes mesures courantes de l'altération, notamment les mesures faciles réaliser d'un point de vue pratique comme le dénombrement de la charge totale des bactéries aérobies mésophiles, la mesure du pH, etc. La corrélation entre ces mesures a été également évaluée, ce qui a montré un fort lien entre les différents types de dégradation « courants » de l'altération. En ce sens, l'altération pourrait être mesurée en pratique avec une réponse simple dont la mesure peut être rapide et peu couteuse comme le pH.

Les approches d'analyse utilisées ont **tenu compte du caractère dynamique** dans la description de l'altération. Le temps de stockage a été considéré tout d'abord comme un facteur qualitatif dans l'évolution des mesures courantes de l'altération en utilisant des modèles à effet-mixte. L'évolution du pH a été ensuite modélisée par un modèle dynamique (formalisée sous forme de fonctions du temps) dont l'estimation des paramètres (vitesses d'acidification) nous a permis de « quantifier » l'effet du lactate et du conditionnement sur le pH. Cette étape de modélisation a représenté une manière de décrire la dynamique de l'altération caractérisée par une réponse simple (le pH) et facile à mesurer et pourrait donc être un moyen utile pour prévoir l'altération notamment dans les produits carnés où le pH joue un rôle essentiel comme les produits fermentés par exemple. Ce modèle a été ajusté grâce à une approche d'inférence bayésienne qui a permis d'estimer les paramètres de manière adaptée à une cinétique obtenue avec peu de données. Ensuite, pour évaluer le lien entre les conditions physicochimiques et microbiologiques au temps initial et la dynamique de l'altération au cours du stockage, un indicateur temporel résumant la dynamique de l'altération (la demi-altération) a été également introduit via la construction d'un modèle non linéaire en se basant sur l'évolution de la perception d'odeur d'altération. Cet indicateur, correspondant au temps de stockage où la moitié d'un panel perçoit une odeur d'altération, facilement interprétable avec une notion de temps, représente un moyen d'évaluer des liens entre les conditions initiales et la dynamique de l'altération. Cependant, la capacité prédictive des modèles proposés étant faible, nous n'avons malheureusement pas pu proposer une méthode efficace pour la prévision de la dynamique de l'altération uniquement par les conditions initiales.

La notion de **variabilité biologique** sur laquelle nous avons voulu mettre un accent a été **prise en compte** dans toutes les étapes de nos analyses. Cette variabilité, intimement liée à la production à l'échelle industrielle comme évoqué précédemment, a été tout d'abord considérée comme un effet aléatoire dans le modèle à effet-mixte visant à identifier les influences majeures des stratégies de préservation sur l'ensemble des mesures courantes de l'altération (cf. chapitre III). Le modèle à effet-mixte a présenté un avantage majeur, par rapport à plusieurs études de la littérature portant par exemple sur une analyse de variance (ANOVA), dans la quantification de l'effet aléatoire des lots de productions industriels très souvent passée sous silence. Ensuite, deux sources de variabilité différentes ont été estimées via la modélisation dynamique de l'évolution du pH sous l'influence des stratégies de préservation (cf. chapitre IV) : il s'agit de la variabilité initiale du pH ainsi que des variations aléatoires observées à chaque point d'échantillonnage, exprimées respectivement par l'estimation de deux paramètres distincts du modèle développé. La variabilité a été spécifiquement étudiée dans l'évaluation de la possibilité de prédire la dynamique de l'altération par l'ensemble de toutes les conditions physico-chimiques et microbiologiques considérées. Enfin, dans la dernière étape « multi-bloc » visant à identifier les liens entre

les différentes structures, la variabilité a été prise en compte notamment via différents prétraitements de données, qui prenaient en considération par exemple les distributions des réponses inter-échantillons, leur échelle de valeurs, etc.

Les méthodologies développées dans cette thèse, visant à mieux comprendre l'altération en déchiffrant un jeu de données hétérogènes complexes, suivait une **stratégie d'analyse encore empirique mais consolidée par avis d'experts**. En effet, la complexité dans l'étude pluridisciplinaire du phénomène de l'altération a nécessité le recours à des connaissances d'experts, que ce soit pour l'exploitation de données bibliographiques *a priori* disponibles ou pour les hypothèses biologiques à inclure dans nos modèles. Ces informations ou données *a priori* nous ont été utiles tout au long du projet, notamment pour (i) la sélection d'études pertinentes pour la procédure de collecte de données quantitatives associées à l'altération, (ii) dans l'estimation de paramètres de modèle dynamique bayésien pour décrire le processus d'acidification, et (iii) dans les chemins (orientations) déterminés *a priori* dans la démarche d'intégration de données décrivant le microbiote, le volatilome et les profils sensoriels.

Les études de l'altération microbiologique de la viande dans la littérature voient aujourd'hui émerger plusieurs types de données multivariées, notamment avec l'arrivée très récente des méthodes de séquençage permettant de décrire la composition du microbiote dans les aliments. Le déchiffrage de ce type de données « nouvelles » dans le domaine, combiné avec les réponses historiquement mesurées en microbiologie pour établir un lien entre les différents caractères de l'altération nécessite toujours des approches d'analyse appropriées, ce qui n'était pas forcément le cas constaté jusqu'ici. L'analyse d'un jeu de données multivariées avec une finalité de recherche de structuration des données en fonction des variables indépendantes qualitatives comme le lactate ou l'atmosphère est faite en général dans la littérature par exemple avec des approches de types analyse discriminante, analyse en coordonnées principales, sPLS-DA, etc. Mais les approches d'intégration de données pour identifier les liens de causalité « complexes » reliant les différents types d'analyses en microbiologie des aliments (une réponse est à la fois la cause et conséquence) ne sont pas encore développés. Un enjeu notable de cette thèse consistait donc à proposer une méthode clé pour l'analyse du lien entre blocs, et en l'occurrence, de faire le lien de causalité entre le microbiote, le volatilome et les profils sensoriels par Path-ComDim, jamais utilisée dans un cadre d'étude de l'altération jusqu'ici.

2.3 Difficultés majeures de l'étude et perspectives

Nous avons pendant cette thèse quatre principaux sous-objectifs scientifiques par rapport à nos différentes questions de recherche évoqué précédemment : (i) la détermination des effets du lactate et du conditionnement sur les réponses courantes ; (ii) la construction d'un

modèle décrivant la dynamique d'une réponse courante au cours du temps (iii) un modèle de prévision de cette dynamique en fonction des conditions initiales ? (iv) une approche pour faire le lien entre les différents types de réponses. Parmi ces sous-objectifs (i) les effets du lactate et de l'atmosphère sur les mesures courantes ont bien été identifiés et (ii) un modèle dynamique pour l'acidification a été construit, l'ajustement du modèle aux données était satisfaisant mais nécessitait des adaptations éventuellement par rapport au plan d'échantillonnage. En ce qui concerne les points (iii) et (iv), nos différentes approches utilisées ont été confronté à plusieurs difficultés qui seront discutées ci-dessous.

Tout d'abord, indépendamment des méthodologies de modélisation ou d'analyses statistiques, plusieurs contraintes à ne surtout pas négliger dans l'étude de l'altération microbiologique de la viande, concernent l'**acquisition de données expérimentales** elle-même. Cette phase expérimentale est primordiale dans l'étude car les données sont indispensables pour la modélisation. Pendant ce projet de thèse, nous avons rencontré de très nombreuses difficultés techniques, très souvent liées à l'étape d'extraction d'ADN bactériens à partir des échantillons de matrices alimentaires, pourtant indispensable pour le séquençage et la détermination de la composition du microbiote. L'étude étant faite sur deux matrices différentes : saucisses de volaille et de porc, plusieurs phases d'adaptation et de mise au point des protocoles expérimentaux ont été nécessaires, elles ont été possibles grâce à la collaboration avec plusieurs partenaires (laboratoires/industriels). Nous avons été également contraints parfois en termes de moyens (techniques ou humains), par exemple pour les analyses sensorielles approfondies ou analyse de volatilome, à faire des choix (par exemple retenir deux formulations de lactate (dose complète et sans lactate) sur les trois étudiées initialement). Les difficultés expérimentales représentent donc un élément à ne pas négliger dans l'étude, pour trouver un bon compromis entre les méthodologies de modélisation à développer et la quantité de données à acquérir.

Un obstacle majeur de l'étude de l'altération microbiologique de la viande fraîche est associé à l'**exploration de l'écosystème complexe** présent sur le produit et au fait que l'on ne connaît pas *a priori* les microorganismes responsables de l'altération. Ceci a entrainé des difficultés dans les analyses à finalité prédictive. Dans l'analyse du chapitre V visant à établir un lien entre les conditions initiales et l'évolution de la perception d'odeur (score sensoriel), les approches proposées pour cela ont souligné la nécessité d'intégrer la composition du microbiote avec les données de séquençage au temps initial. La capacité de prédiction du score sensoriel par ces données de microbiote au temps initial, comportant un grand nombre de variables à exploiter, a montré des valeurs très faibles, malgré une étape préliminaire de filtrage de variables. La diversité élevée (le grand nombre de microorganismes) d'espèces dans le microbiote est connue (Chaillou et al., 2015) et ne représente pas forcément un problème en soi dans une analyse statistique descriptive, par exemple dans une étude de classification ou recherche de structure du microbiote (Fontana et al., 2016; Lucquin et al.,

2012). En revanche, le fait de ne pas connaître les responsables de l'altération susceptibles de contribuer à la dynamique de l'altération subséquente, a rendu difficile la prédiction de cette dernière. Une autre raison de cette faible capacité prédictive serait associée au fait que la composition du microbiote peut évoluer elle-même au cours du stockage (Jääskeläinen et al., 2016; Säde et al., 2017). Enfin, dans notre démarche d'intégration de données associant le microbiote, les composés volatils produits et les profils sensoriels, l'évolution du microbiote, potentiellement caractérisée par des interactions entre espèces bactériennes par des mécanismes inconnus (compétition pour substrats nutritifs, fonctions inhibitrices, etc.) et très difficiles *(voire impossible ?)* à modéliser à ce jour, pourrait être aussi une raison de la faible part de variabilité expliquée dans la structure du microbiote.

Le caractère dynamique de l'altération a été pris en compte dans nos différentes approches de modélisation, notamment par des modèles dynamiques décrivant une (des) réponse(s) en fonction du temps (cf. chapitres IV, V). Avec ce type de modèle, nous nous sommes toutefois confrontés à des difficultés dans l'**estimation des paramètres**, premièrement parce que le nombre de points d'échantillonnage (temps suivis au cours du stockage) n'était probablement pas suffisant pour bien ajuster les courbes cinétiques aux données expérimentales. Dans nos modèles, par parcimonie, nous avons fait le choix de fixer certains paramètres ainsi que d'utiliser une approche bayésienne afin d'améliorer l'estimation, malheureusement l'ajustement des modèles a tout de même présenté des biais. Une autre difficulté associée aux paramètres de modèle concerne la manière de les définir. Nous avons bâti jusqu'ici les modèles dynamiques à chaque fois pour une seule réponse (soit le pH, soit le score sensoriel) sous l'influence de différentes conditions de lactate et de l'atmosphère. Or, il a été observé que les réponses étaient fortement corrélées alors que l'influence n'était pas dans le même sens de variation pour toutes les réponses (cf. chapitre III). De ce fait, il n'est pas évident de définir des paramètres appropriés pour pouvoir tenir compte de ces aspects dans un modèle dynamique plus global associant plusieurs réponses sans rajouter beaucoup de paramètres supplémentaires à estimer. Par ailleurs, en complément des paramètres caractérisant les propriétés du phénomène (comme un taux d'acidification, une vitesse d'altération, un temps demi-altération, etc.), il a été nécessaire de définir également différents paramètres dits stochastiques pour décrire les différentes sources de variabilité aléatoire. L'estimation de ces **variabilités que l'on ne maîtrise** malheureusement pas, et dont on a en général peu d'informations *a priori*, pourrait ajouter une difficulté supplémentaire dans les modèles dynamiques. La construction de ces derniers nécessiterait un compromis entre la prise en compte de différents aspects et le nombre de paramètres au vu des quantités de données disponibles, ou éventuellement une adaptation du plan d'expérience avec plus de points de suivi moins espacés pour avoir un meilleur ajustement des cinétiques.

Une autre difficulté rencontrée est associée à la **nature de données**, et en l'occurrence dans ce projet, cela concernait principalement les données discrètes. Revenons par exemple sur l'évaluation de certains défauts visuels lors de notre première analyse, comme le gonflement des barquettes, la présence d'exsudat dans les barquettes. En pratique, ces évaluations pour les différentes conditions de lactate/atmosphère au cours du stockage ont été faites à l'aide d'une réponse binaire (présent/absent). L'ajustement des modèles de type logistique, pourtant couramment utilisé pour ce type de données, n'a pas pu aboutir à la quantification des effets potentiels du lactate/atmosphère, probablement en raison du faible nombre de temps de suivi ou encore de l'espacement non adapté entre ces temps pour ces réponses. De même, le score sensoriel (proportion du panel qui perçoit une odeur d'altération) associé à des données de nature binaire à la base (pour chaque personne : présence/absence d'odeur), a dû être transformé ensuite en variable continue (proportion du panel à chaque temps suivi) au vu des problèmes rencontrés pour l'évaluation des défauts visuels. Cependant, comme évoqué dans le chapitre V, nous avons eu encore des difficultés pour prédire ce score continu distinctement à différents temps de suivi. Il a donc fallu réaliser une étape supplémentaire pour résumer l'évolution de ce score en un indicateur temporel dit de « demi-altération » olfactive, ce qui a donné des résultats de prédiction plus encourageants.

Au vu des points discutés ci-dessus, plusieurs perspectives peuvent s'ouvrir pour des études futures de l'altération de la viande. Tout d'abord, plusieurs applications et adaptations des approches d'analyse développées dans cette thèse pourraient être réalisées sur d'autres types de matrice alimentaire, et en l'occurrence sur la matrice de porc dont les phases de modélisation dynamique, de la prédiction par les conditions initiales ainsi que de l'étape d'intégration de données. Cette adaptation pourrait représenter des éléments d'explication importants dans la différence entre les mécanismes microbiens conduisant à l'altération des deux matrices (porc et volaille). Il serait également intéressant de généraliser notre approche d'intégration de données à d'autres études et ouvrir l'opportunité d'application notamment par un dépôt de script sous R ou un développement de package, prêt à être employé par d'autres utilisateurs dans d'autres domaines.

Dans ce projet, la prise en compte de la variabilité étant supposée issues des lots de production industriels a été faite sur dix lots de production, mais finalement ces derniers ont conduit à différentes difficultés, notamment dans la façon dont le microbiote est structuré initialement. Pour la suite de l'étude, il serait intéressant de prendre en compte cette variabilité autrement, soit (1) par la recherche des origines de cette variabilité tout au long de la chaîne de production, soit (2) d'une manière plus maîtrisée de ce microbiote initial, via une inoculation sur la viande d'un microbiote dont on peut connaître *a priori* la composition. Dans cette optique, on peut déjà maîtriser ou au moins connaître les caractéristiques microbiologies initiales, ce qui pourrait faciliter le développement d'autres modèles de prédiction ou améliorer la capacité des modèles développés jusqu'ici.

L'étude d'intégration de données par Path-ComDim nous a permis d'identifier des liens spécifiques entre certaines réponses identifiées, et en se basant sur quelques liens identifiés et en support par des dires d'experts, nous pourrions probablement nous orienter vers des modèles globaux plus sophistiqués comme des modèles de réseaux bayésiens, pour décrire le phénomène de l'altération dans le temps. Un concept possible de ce type de modèle consisterait à déterminer des probabilités d'avoir une telle réponse, à tel moment du stockage, donnant à la production de telle molécule conduisant à quelle odeur, sachant *a priori* une voie métabolique donnée par une espèce présente, et à un tel niveau d'abondance. Ce type de modèle pourrait être un élément clé pour réaliser de futurs outils de prévision de l'altération pertinents applicable en industrie sans négliger les aspects essentiels du mécanisme microbien impliqué dans l'altération.

Références bibliographiques

Abdel-Aziz, S. M., Asker, M. M. S., Keera, A. A., & Mahmoud, M. G. (2016). Microbial food spoilage: Control strategies for shelf life extension. In *Microbes in Food and Health* (pp. 239–264). Springer International Publishing.

AFNOR. (2018). *Food safety - Guidelines for the drawing up of durability studies - Chilled perishable and highly perishable foodstuffs: Vol. NF V01-003*.

Ahnström, M. L., Seyfert, M., Hunt, M. C., & Johnson, D. E. (2006). Dry aging of beef in a bag highly permeable to water vapour. *Meat Science*, *73*(4), 674–679.

Aji, S., Tavolaro, S., Lantz, F., & Faraj, A. (2003). Apport du bootstrap à la régression PLS : application à la prédiction de la qualité des gazoles. *Oil & Gas Science and Technology - Rev. IFP*, *58*(5), 599–608.

Al-Nehlawi, A., Guri, S., Guamis, B., & Saldo, J. (2014). Synergistic effect of carbon dioxide atmospheres and high hydrostatic pressure to reduce spoilage bacteria on poultry sausages. *LWT - Food Science and Technology*, *58*(2), 404–411.

Alizadeh Sani, M., Ehsani, A., & Hashemi, M. (2017). Whey protein isolate/cellulose nanofibre/TiO2 nanoparticle/rosemary essential oil nanocomposite film: Its effect on microbial and sensory quality of lamb meat and growth of common foodborne pathogenic bacteria during refrigeration. *International Journal of Food Microbiology*, *251*, 8–14.

Alvarado, C. Z., Wenger, E., & O'keefe, S. F. (2005). Consumer perceptions of meat quality and shelf-life in commercially raised broilers compared to organic free range broilers. *XVII European Symposium on the Quality of Poultry Meat*, 23–26.

Ammor, M. S., Argyri, A. A., & Nychas, G.-J. E. (2009). Rapid monitoring of the spoilage of minced beef stored under conventionally and active packaging conditions using Fourier transform infrared spectroscopy in tandem with chemometrics. *Meat Science*, *81*(3), 507–514.

AMSA. (2012). *Meat color measurement guidelines*. American meat science association.

Ardö, Y. (2006). Flavour formation by amino acid catabolism. In *Biotechnology Advances* (Vol. 24, Issue 2, pp. 238–242).

Argyri, A. A., Doulgeraki, A. I., Blana, V. A., Panagou, E. Z., & Nychas, G.-J. E. (2011). Potential of a simple HPLC-based approach for the identification of the spoilage status of minced beef stored at various temperatures and packaging systems. *International Journal of Food Microbiology*, *150*(1), 25–33.

Argyri, A. A., Jarvis, R. M., Wedge, D., Xu, Y., Panagou, E. Z., Goodacre, R., & Nychas, G.-J. E. (2013). A comparison of Raman and FT-IR spectroscopy for the prediction of meat spoilage. *Food Control*, *29*(2), 461–470.

Argyri, A. A., Mallouchos, A., Panagou, E. Z., & Nychas, G.-J. E. (2015). The dynamics of the HS/SPME–GC/MS as a tool to assess the spoilage of minced beef stored under different packaging and temperature conditions. *International Journal of Food*

Microbiology, *193*, 51–58.

Argyri, A. A., Panagou, E. Z., Tarantilis, P. A., Polysiou, M., & Nychas, G.-J. E. (2010). Rapid qualitative and quantitative detection of beef fillets spoilage based on Fourier transform infrared spectroscopy data and artificial neural networks. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *145*(1), 146–154.

Arnaud, E., Santchurn, S. J., & Collignan, A. (2014). Fermented Poultry Sausages. In *Handbook of Fermented Meat and Poultry* (pp. 329–338). John Wiley & Sons, Ltd.

Balamatsia, C. C., Paleologos, E. K., Kontominas, M. G., & Savvaidis, I. N. (2006). Correlation between microbial flora, sensory changes and biogenic amines formation in fresh chicken meat stored aerobically or under modified atmosphere packaging at 4 degrees C: possible role of biogenic amines as spoilage indicators. *International Journal of General and Molocular Microbiology*, *89*(1), 9–17.

Balamatsia, C. C., Patsias, A., Kontominas, M. G., & Savvaidis, I. N. (2007). Possible role of volatile amines as quality-indicating metabolites in modified atmosphere-packaged chicken fillets: Correlation with microbiological and sensory attributes. *Food Chemistry*, *104*(4), 1622–1628.

Baldin, J. C., Michelin, E. C., Polizer, Y. J., Rodrigues, I., de Godoy, S. H. S., Fregonesi, R. P., Pires, M. A., Carvalho, L. T., Fávaro-Trindade, C. S., de Lima, C. G., Fernandes, A. M., & Trindade, M. A. (2016). Microencapsulated jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) extract added to fresh sausage as natural dye with antioxidant and antimicrobial activity. *Meat Science*, *118*, 15–21.

Bañón, S., Méndez, L., & Almela, E. (2012). Effects of dietary rosemary extract on lamb spoilage under retail display conditions. *Meat Science*, *90*(3), 579–583.

Baranyi, J., Pin, C., & Ross, T. (1999). Validating and comparing predictive models. *International Journal of Food Microbiology*, *48*(3), 159–166.

Baranyi, J., & Roberts, T. A. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*, *23*(3–4), 277–294.

Baranyi, J., & Roberts, T. A. (1995). Mathematics of predictive food microbiology. *International Journal of Food Microbiology*, *26*(2), 199–218.

Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2014). *lme4*: linear mixed-effects models using S4 classes. R package version 1.1-6. In *R*.

Baty, F., Ritz, C., Charles, S., Brutsche, M., Flandrois, J. P., & Delignette-Muller, M. L. (2015). A toolbox for nonlinear regression in R: The package *nlstools*. *Journal of Statistical Software*, *66*(5), 1–21.

Beaumont, M. A., Zhang, W., & Balding, D. J. (2002). Approximate Bayesian computation in population genetics. *Genetics*, *162*(4), 2025–2035.

Bell, R. G., Moorhead, S. M., & Broda, D. M. (2001). Influence of heat shrink treatments on the onset of clostridial “blown pack” spoilage of vacuum packed chilled meat. *Food*

Research International, *34*(4), 271–275.

Bellés, M., Alonso, V., Roncalés, P., & Beltrán, J. A. (2017). The combined effects of superchilling and packaging on the shelf life of lamb. *Meat Science*, *133*, 126–132.

Benson, A. K., David, J. R. D., Gilbreth, S. E., Smith, G., Nietfeldt, J., Legge, R., Kim, J., Sinha, R., Duncan, C. E., Ma, J., & Singh, I. (2014). Microbial successions are associated with changes in chemical profiles of a model refrigerated fresh pork sausage during an 80-day shelf life study. *Applied and Environmental Microbiology*, *80*(17), 5178–5194.

Biancolillo, A., Boqué, R., Cocchi, M., & Marini, F. (2019). Data Fusion Strategies in Food Analysis. In *Data Handling in Science and Technology* (Vol. 31, pp. 271–310). Elsevier Ltd.

Blana, V. A., & Nychas, G.-J. E. (2014). Presence of quorum sensing signal molecules in minced beef stored under various temperature and packaging conditions. *International Journal of Food Microbiology*, *173*, 1–8.

Blixt, Y., & Borch, E. (1999). Using an electronic nose for determining the spoilage of vacuum-packaged beef. *International Journal of Food Microbiology*, *46*(2), 123–134.

Bodein, A., Chapleur, O., Droit, A., & Lê Cao, K.-A. (2019). A generic multivariate framework for the integration of microbiome longitudinal studies with other data types. *Frontiers in Genetics*, *10*.

Bohrer, B. M. (2017). Review: Nutrient density and nutritional value of meat products and non-meat foods high in protein. *Trends in Food Science and Technology*, *65*, 103–112.

Borch, E., & Agerhem, H. (1992). Chemical, microbial and sensory changes during the anaerobic cold storage of beef inoculated with a homofermentative *Lactobacillus* sp. or a *Leuconostoc* sp. *International Journal of Food Microbiology*, *15*(1), 99–108.

Borch, E., Kant-Muermans, M. L., & Blixt, Y. (1996). Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*, *33*(1), 103–120.

Borràs, E., Ferré, J., Boqué, R., Mestres, M., Aceña, L., & Busto, O. (2015). Data fusion methodologies for food and beverage authentication and quality assessment - A review. In *Analytica Chimica Acta* (Vol. 891, pp. 1–14). Elsevier.

Botta, C., Ferrocino, I., Cavallero, M. C., Riva, S., Giordano, M., & Cocolin, L. (2018). Potentially active spoilage bacteria community during the storage of vacuum packaged beefsteaks treated with aqueous ozone and electrolyzed water. *International Journal of Food Microbiology*, *266*, 337–345.

Bouju-Albert, A., Pilet, M.-F., & Guillou, S. (2018). Influence of lactate and acetate removal on the microbiota of french fresh pork sausages. *International Journal of Food Microbiology*, *76*, 328–336.

Bradford, D. D., Huffman, D. L., Egbert, W. R., & Jones, W. R. (1993). Low fat fresh pork sausage patty stability in refrigerated storage with potassium lactate. *Journal of Food*

Science, *58*(3), 488–491.

Breidt, F., & Fleming, H. P. (1998). Modeling of the competitive growth of *Listeria monocytogenes* and *Lactococcus lactis* in vegetable broth. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(9), 3159–3165.

Breitwieser, M., Vigneau, E., Viricel, A., Becquet, V., Lacroix, C., Erb, M., Huet, V., Churlaud, C., Le Floch, S., Guillot, B., Graber, M., & Thomas, H. (2018). What is the relationship between the bioaccumulation of chemical contaminants in the variegated scallop Mimachlamys varia and its health status? A study carried out on the French Atlantic coast using the Path ComDim model. *Science of the Total Environment*, *640–641*, 662–670.

Brightwell, G., Clemens, R., Urlich, S., & Boerema, J. (2007). Possible involvement of psychrotolerant *Enterobacteriaceae* in blown pack spoilage of vacuum-packaged raw meats. *International Journal of Food Microbiology*, *119*(3), 334–339.

Broda, D. M., Delacy, K. M., Bell, R. G., Braggins, T. J., & Cook, R. L. (1996). Psychrotrophic *Clostridium* spp. associated with 'blown pack' spoilage of chilled vacuum-packed red meats and dog rolls in gas-impermeable plastic casings. *International Journal of Food Microbiology*, *29*(2), 335–352.

Brul, S., Van Gerwen, S., & Zwietering, M. H. (Eds.). (2007). *Modelling Microorganisms in Food - 1st Edition*. Woodhead Publishing in Food Science, Technology and Nutrition.

Bry, X., Redont, P., Verron, T., & Cazes, P. (2012). THEME-SEER: a multidimensional exploratory technique to analyze a structural model using an extended covariance criterion. *Journal of Chemometrics*, *26*(5), 158–169.

Buchanan, R. L., Whiting, R. C., & Damert, W. C. (1997). When is simple good enough: a comparison of the Gompertz, Baranyi, and three-phase linear models for fitting bacterial growth curves. *Food Microbiology*, *14*(4), 313–326.

Buehler, A. J., Martin, N. H., Boor, K. J., & Wiedmann, M. (2018). Psychrotolerant spore-former growth characterization for the development of a dairy spoilage predictive model. *Journal of Dairy Science*, *101*(8), 6964–6981.

Cao, Y., Fanning, S., Proos, S., Jordan, K., & Srikumar, S. (2017). A review on the applications of next generation sequencing technologies as applied to food-related microbiome studies. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 8, Issue SEP, p. 1829). Frontiers Media S.A.

Capita, R., Álvarez-González, T., & Alonso-Calleja, C. (2017). Effect of several packaging conditions on the microbiological, physicochemical and sensory properties of ostrich steaks during refrigerated storage. *Food Microbiology*, *72*, 146–156.

Cardinali, G., Corte, L., & Robert, V. (2017). Next Generation Sequencing: problems and opportunities for next generation studies of microbial communities in food and food industry. In *Current Opinion in Food Science* (Vol. 17, pp. 62–67). Elsevier Ltd.

Cariou, V., Jouan-Rimbaud Bouveresse, D., Qannari, E. M., & Rutledge, D. N. (2019). ComDim Methods for the Analysis of Multiblock Data in a Data Fusion Perspective. In *Data Handling in Science and Technology* (Vol. 31, pp. 179–204). Elsevier Ltd.

Cariou, Véronique, Qannari, E. M., Rutledge, D. N., & Vigneau, E. (2018). ComDim: From multiblock data analysis to path modeling. *Food Quality and Preference*, *67*, 27–34.

Carrizosa, E., Benito, M. J., Ruiz-Moyano, S., Hernández, A., Villalobos, M. del C., Martín, A., & Córdoba, M. de G. (2017). Bacterial communities of fresh goat meat packaged in modified atmosphere. *Food Microbiology*, *65*, 57–63.

Casaburi, A., Piombino, P., Nychas, G.-J. J. E., Villani, F., & Ercolini, D. (2015). Bacterial populations and the volatilome associated to meat spoilage. *Food Microbiology*, *45*(PA), 83–102.

Cayré, M. E., Garro, O., & Vignolo, G. (2005). Effect of storage temperature and gas permeability of packaging film on the growth of lactic acid bacteria and *Brochothrix thermosphacta* in cooked meat emulsions. *Food Microbiology*, *22*(6), 505–512.

Cegielska-Radziejewska, R., & Pikul, J. (2004). Sodium lactate addition on the quality and shelf Life of refrigerated sliced poultry sausage packaged in air or nitrogen Atmosphere. *Journal of Food Protection*, *67*(3), 601–606.

Cerveny, J., Meyer, J. D., & Hall, P. A. (2009). Microbiological spoilage of meat and poultry products. *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages*, 69–86.

Chaillou, S., Chaulot-Talmon, A., Caekebeke, H., Cardinal, M., Christieans, S., Denis, C., Hélène Desmonts, M., Dousset, X., Feurer, C., Hamon, E., Joffraud, J. J., La Carbona, S., Leroi, F., Leroy, S., Lorre, S., Macé, S., Pilet, M.-F., Prévost, H., Rivollier, M., … Champomier-Vergès, M.-C. (2015). Origin and ecological selection of core and food-specific bacterial communities associated with meat and seafood spoilage. *International Society for Microbial Ecology*, *9*(5), 1105–1118.

Chen, Q., Li, H., Ouyang, Q., & Zhao, J. (2014). Identification of spoilage bacteria using a simple colorimetric sensor array. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, *205*, 1–8.

Chin, W. W. (1998). The partial least squares approach for structural equation modeling. *Modern Methods for Business Research*, *January 1998*, 295–336.

Chouliara, E., Karatapanis, A., Savvaidis, I. N., & Kontominas, M. G. (2007). Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 degrees C. *Food Microbiology*, *24*(6), 607–617.

Chulayo, A. Y., Bradley, G., & Muchenje, V. (2016). Effects of transport distance, lairage time and stunning efficiency on cortisol, glucose, HSPA1A and how they relate with meat quality in cattle. *Meat Science*, *117*, 89–96.

CIE. (1978). *Compagnie Internationale de l'Eclairage. Recommendations on uniform color spaces, color diverence equations, CIE psychometric color terms: Vol. Supplement.* Bureau central de la CIE.

Cornu, M., Billoir, E., Bergis, H., Beaufort, A., & Zuliani, V. (2011). Modeling microbial competition in food: Application to the behavior of *Listeria monocytogenes* and lactic acid flora in pork meat products. *Food Microbiology*, *28*(4), 639–647.

Coroller, L., Kan-King-Yu, D., Leguerinel, I., Mafart, P., & Membré, J.-M. (2012). Modelling of growth, growth/no-growth interface and nonthermal inactivation areas of Listeria in foods. *International Journal of Food Microbiology*, *152*(3), 139–152.

Costa, J. C. C. P., Tremarin, A., Longhi, D. A., Silva, A. P. R. da, Carciofi, B. A. M., Laurindo, J. B., & Aragão, G. M. F. de. (2016). Predictive modeling of the growth of *Lactobacillus viridescens* under Non-isothermal Conditions. *Procedia Food Science*, *7*, 29–32.

Coutinho de Oliveira, T. L., Malfitano de Carvalho, S., de Araújo Soares, R., Andrade, M. A., Cardoso, M. das G., Ramos, E. M., & Piccoli, R. H. (2012). Antioxidant effects of *Satureja montana* L. essential oil on TBARS and color of mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. *LWT - Food Science and Technology*, *45*(2), 204–212.

Crépet, A., Stahl, V., & Carlin, F. (2009). Development of a hierarchical Bayesian model to estimate the growth parameters of *Listeria monocytogenes* in minimally processed fresh leafy salads. *International Journal of Food Microbiology*, *131*(2–3), 112–119.

Crist, C. A., Williams, J. B., Schilling, M. W., Hood, A. F., Smith, B. S., & Campano, S. G. (2014). Impact of sodium lactate and vinegar derivatives on the quality of fresh Italian pork sausage links. *Meat Science*, *96*(4), 1509–1516.

da Silva, N. B., Longhi, D. A., Martins, W. F., Laurindo, J. B., de Aragao, G. M., & Carciofi, B. A. M. (2017). Modeling the growth of Lactobacillus viridescens under non-isothermal conditions in vacuum-packed sliced ham. *International Journal of Food Microbiology*, *240*(SI), 97–101.

da Silva Sabo, S., Pérez-Rodríguez, N., Domínguez, J. M., & de Souza Oliveira, R. P. (2017). Inhibitory substances production by *Lactobacillus plantarum* ST16Pa cultured in hydrolyzed cheese whey supplemented with soybean flour and their antimicrobial efficiency as biopreservatives on fresh chicken meat. *Food Research International*, *99*, 762–769.

Dagnas, S., Onno, B., & Membré, J.-M. (2014). Modeling growth of three bakery product spoilage molds as a function of water activity, temperature and pH. *International Journal of Food Microbiology*, *186*, 95–104.

Dainty, R. H., & Mackey, B. M. (1992). The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. *Journal of Applied Bacteriology*, *73*, 103s-114s.

Dave, D., & Ghaly, A. E. (2011). Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: A critical review. *American Journal of Agricultural and Biological Science*, *6*(4), 486–510.

Davey, K. R. (1989). A predictive model for combined temperature and water activity on

microbial growth during the growth phase. *Journal of Applied Bacteriology*, *67*, 483–488.

Del Blanco, A., Caro, I., Quinto, E. J., & Mateo, J. (2017). Quality changes in refrigerated stored minced pork wrapped with plastic cling film and the effect of glucose supplementation. *Meat Science*, *126*, 55–62.

del Río, E., Panizo-Morán, M., Prieto, M., Alonso-Calleja, C., & Capita, R. (2007). Effect of various chemical decontamination treatments on natural microflora and sensory characteristics of poultry. *International Journal of Food Microbiology*, *115*(3), 268–280.

Delignette-Muller, M.-L., Cornu, M., Pouillot, R., & Denis, J. B. (2006). Use of Bayesian modelling in risk assessment: Application to growth of Listeria monocytogenes and food flora in cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology*, *106*(2), 195–208.

Delignette-Muller, M. L. (2009). Principles of predictive modeling. In *Safety of Meat and Processed Meat* (pp. 535–558). Springer New York.

Dens, E. J., Vereecken, K. M., & Van-Impe, J. . (1999). A prototype model structure for mixed microbial populations in homogeneous food products. *Journal of Theoretical Biology*, *201*(3), 159–170.

Dermesonluoglu, E., Fileri, K., Orfanoudaki, A., Tsevdou, M., Tsironi, T., & Taoukis, P. (2016). Modelling the microbial spoilage and quality decay of pre-packed dandelion leaves as a function of temperature. *Journal of Food Engineering*, *184*, 21–30.

Deumier, F., & Collignan, A. (2003). The effects of sodium lactate and starter cultures on pH, lactic acid bacteria, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. levels in pure chicken dry fermented sausage. *Meat Science*, *65*(3), 1165–1174.

Devlieghere, F., Geeraerd, A. H., Versyck, K. J., Bernaert, H., Van Impe, J. F., & Debevere, J. (2000). Shelf life of modified atmosphere packed cooked meat products: addition of Na-lactate as a fourth shelf life determinative factor in a model and product validation. *International Journal of Food Microbiology*, *58*(1), 93–106.

Díaz, P., Garrido, M. D., & Bañón, S. (2010). The effects of packaging method (vacuum pouch vs. plastic tray) on spoilage in a cook-chill pork-based dish kept under refrigeration. *Meat Science*, *84*(3), 538–544.

Djenane, D., Sánchez-Escalante, A., Beltrán, J. A., & Roncalés, P. (2003). The shelf-life of beef steaks treated with dl-lactic acid and antioxidants and stored under modified atmospheres. *Food Microbiology*, *20*(1), 1–7.

Doulgeraki, A. I., & Nychas, G.-J. E. (2013). Monitoring the succession of the biota grown on a selective medium for pseudomonads during storage of minced beef with molecular-based methods. *Food Microbiology*, *34*(1), 62–69.

Doulgeraki, A. I., Paramithiotis, S., Kagkli, D. M., & Nychas, G.-J. E. (2010). Lactic acid bacteria population dynamics during minced beef storage under aerobic or modified

atmosphere packaging conditions. *Food Microbiology*, *27*(8), 1028–1034.

Doulgeraki, A. I., Paramithiotis, S., & Nychas, G.-J. E. (2011). Characterization of the *Enterobacteriaceae* community that developed during storage of minced beef under aerobic or modified atmosphere packaging conditions. *International Journal of Food Microbiology*, *145*(1), 77–83.

Dousset, X., Jaffrès, E., & Zagorec, M. (2016). Spoilage: bacterial spoilage. In *Encyclopedia of Food and Health* (1st ed., Vol. 5). Elsevier Ltd.

Drosinos, E. H., Mataragas, M., Kampani, A., Kritikos, D., & Metaxopoulos, I. (2006). Inhibitory effect of organic acid salts on spoilage flora in culture medium and cured cooked meat products under commercial manufacturing conditions. *Meat Science*, *73*(1), 75–81.

Economou, T., Pournis, N., Ntzimani, A., & Savvaidis, I. N. (2009). Nisin–EDTA treatments and modified atmosphere packaging to increase fresh chicken meat shelf-life. *Food Chemistry*, *114*(4), 1470–1476.

Ellouze, M., & Augustin, J.-C. (2010). Applicability of biological time temperature integrators as quality and safety indicators for meat products. *International Journal of Food Microbiology*, *138*(1), 119–129.

Ellouze, M., Pichaud, M., Bonaiti, C., Coroller, L., Couvert, O., Thuault, D., & Vaillant, R. (2008). Modelling pH evolution and lactic acid production in the growth medium of a lactic acid bacterium: Application to set a biological TTI. *International Journal of Food Microbiology*, *128*(1), 101–107.

Ercolini, D., Casaburi, A., Nasi, A., Ferrocino, I., Di Monaco, R., Ferranti, P., Mauriello, G., & Villani, F. (2010). Different molecular types of *Pseudomonas fragi* have the same overall behaviour as meat spoilers. *International Journal of Food Microbiology*, *142*(1–2), 120–131.

Ercolini, D., Russo, F., Blaiotta, G., Pepe, O., Mauriello, G., & Villani, F. (2007). Simultaneous detection of *Pseudomonas fragi*, *P. lundensis*, and *P. putida* from meat by use of a multiplex PCR assay targeting the *carA* gene. *Applied and Environmental Microbiology*, *73*(7), 2354–2359.

Erkmen, O., & Bozoglu, T. F. (2016). Spoilage of meat and meat products. In *Food Microbiology: Principles into Practice* (pp. 279–295). Wiley.

Escudié, F., Auer, L., Bernard, M., Mariadassou, M., Cauquil, L., Vidal, K., Maman, S., Hernandez-Raquet, G., Combes, S., & Pascal, G. (2018). FROGS: Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution. *Bioinformatics*, *34*(8), 1287–1294.

FAO. (2015). *FAOSTAT. Food and Agriculture Organisation of the United Nations*.

Farber, J. M. (1991). Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology - A review. *Journal of Food Protection*, *54*, 58–70.

Farkas, J., & Andrássy, É. (1993). Interaction of ionising radiation and acidulants on the

growth of the microflora of a vacuum-packaged chilled meat product. In *International Journal of Food Microbiology* (Vol. 19, Issue 2).

Feinerer, I., & Hornik, K. (2018). *tm*: Text Mining Package. *R Package Version 0.7-4*.

Ferrentino, G., Balzan, S., & Spilimbergo, S. (2013). Optimization of supercritical carbon dioxide treatment for the inactivation of the natural microbial flora in cubed cooked ham. *International Journal of Food Microbiology*, *161*(3), 189–196.

Ferrer, J., Prats, C., López, D., & Vives-Rego, J. (2009). Mathematical modelling methodologies in predictive food microbiology: A SWOT analysis. In *International Journal of Food Microbiology* (Vol. 134, Issues 1–2, pp. 2–8). Elsevier.

Ferrocino, I., Bellio, A., Giordano, M., Macori, G., Romano, A., Rantsiou, K., Decastelli, L., & Cocolin, L. (2018). Shotgun metagenomics and volatilome profile of the microbiota of fermented sausages. *American Society for Microbiology*, *84*(3), 1–15.

Firstenberg-Eden, R. (1985). Electrical impedance method for determining microbial quality of foods. In *Rapid Methods and Automation in Microbiology and Immunology* (pp. 679–687). Springer Berlin Heidelberg.

Fontana, C., Bassi, D., López, C., Pisacane, V., Otero, M. C., Puglisi, E., Rebecchi, A., Cocconcelli, P. S., & Vignolo, G. (2016). Microbial ecology involved in the ripening of naturally fermented llama meat sausages. A focus on lactobacilli diversity. *International Journal of Food Microbiology*, *236*, 17–25.

Fougy, L., Desmonts, M., Coeuret, G., Fassel, C., Hamon, E., & Hézard, B. (2016). Reducing salt in raw pork sausages increases spoilage and correlates with reduced bacterial diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, *82*(13).

Friedrich, L., Siró, I., Dalmadi, I., Horváth, K., Ágoston, R., & Balla, C. (2008). Influence of various preservatives on the quality of minced beef under modified atmosphere at chilled storage. *Meat Science*, *79*(2), 332–343.

Gamage, S. D., Faith, N. G., Luchansky, J. B., Buege, D. R., & Ingham, S. C. (1997). Inhibition of microbial growth in chub-packed ground beef by refrigeration (2°C) and medium-dose (2.2 to 2.4 kGy) irradiation. *International Journal of Food Microbiology*, *37*(2), 175–182.

Garthwaite, P. H., Kadane, J. B., & O'Hagan, A. (2005). Statistical methods for eliciting probability distributions. *Journal of the American Statistical Association*, *100*(470), 680–700.

Geeraerts, W., Pothakos, V., De Vuyst, L., & Leroy, F. (2017). Diversity of the dominant bacterial species on sliced cooked pork products at expiration date in the Belgian retail. *Food Microbiology*, *65*, 236–243.

Gelman, A. (2006). Prior distributions for variance parameters in hierarchical models (Comment on Article by Browne and Draper). *Bayesian Analysis*, *1*(3), 515–534.

Gelman, A., & Rubin, D. B. (1992). Inference from iterative simulation using multiple

sequences. *Statistical Science*, *7*(4), 457–511.

Genigeorgis, C. A. (1985). Microbial and safety implications of the use of modified atmospheres to extend the storage life of fresh meat and fish. *International Journal of Food Microbiology*, *1*(5), 237–251.

Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., & Georgakis, S. A. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and alpha-tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C. *Meat Science*, *76*(1), 172–181.

Geweke, J. (1991). Evaluating the accuray of sampling-based approaches to the calculation of posterior moments. In *Bayesian Statistics 4*.

Geysen, S., Escalona, V. H., Verlinden, B. E., Aertsen, A., Geeraerd, A. H., Michiels, C. W., Van Impe, J. F., & Nicolaï, B. M. (2006). Validation of predictive growth models describing superatmospheric oxygen effects on *Pseudomonas fluorescens* and *Listeria innocua* on fresh-cut lettuce. *International Journal of Food Microbiology*, *111*(1), 48–58.

Ghiaci, P., Lameiras, F., Norbeck, J., & Larsson, C. (2014). Production of 2-butanol through meso-2,3-butanediol consumption in lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, *360*(1), 70–75.

Gibson, A. M., Bratchell, N., & Roberts, T. A. (1987). The effect of sodium chloride and temperature on the rate and extent of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry. *Journal of Applied Bacteriology*, *62*(6), 479–490.

Gill, A. O., & Holley, R. A. (2003). Interactive inhibition of meat spoilage and pathogenic bacteria by lysozyme, nisin and EDTA in the presence of nitrite and sodium chloride at 24 °C. *International Journal of Food Microbiology*, *80*(3), 251–259.

Gill, C. O. (1990). Controlled atmosphere packaging of chilled meat. *Food Control*, *1*(2), 74–78.

Gill, C. O., & Bryant, J. (1992). The contamination of pork with spoilage bacteria during commercial dressing, chilling and cutting of pig carcasses. *International Journal of Food Microbiology*, *16*(1), 51–62.

Gill, C. O., Greer, G. G., & Dilts, B. D. (1997). The aerobic growth of *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* in broths and on pork. *International Journal of Food Microbiology*, *35*(1), 67–74.

Gill, J. (1999). The insignificance of null hypothesis significance testing. *Political Research Quarterly*, *52*(3), 647–674.

Gimenez, B., & Dalgaard, P. (2004). Modelling and predicting the simultaneous growth of *Listeria monocytogenes* and spoilage micro-organisms in cold-smoked salmon. *Journal of Applied Microbiology*, *96*(1), 96–109.

Giuffrida, A., Ziino, G., Valenti, D., Donato, G., & Panebianco, A. (2008). Application of an interspecific competition model to predict the growth of *Aeromonas hydrophila* on

fish surfaces during the refrigerated storage. *Archiv Fur Lebensmittelhygiene*, *58*, 136–141.

Gliner, J. A., Morgan, G. A., Leech, N. L., & Harmon, R. J. (2001). Problems with null hypothesis significance testing. In *Clinicians's Guide to Research Method and Statistics*.

Gompertz, B. (1825). On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, *115*, 513–583.

Gougouli, M., & Koutsoumanis, K. P. (2017). Risk assessment of fungal spoilage: A case study of *Aspergillus niger* on yogurt. *Food Microbiology*, *65*, 267–243.

Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J. B., Christensen, A. B., & Givskov, M. (2002). Food spoilage–interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, *78*(1–2), 79–97.

Grandison, A. S., & Jennings, A. (1993). Extension of the shelf life of fresh minced chicken meat by electron beam irradiation combined with modified atmosphere packaging. *Food Control*, *4*(2), 83–88.

Gray, J. I. (1978). Measurement of lipid oxidation: A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *55*(6), 539–546.

Grech, V., & Calleja, N. (2018). WASP (Write a Scientific Paper): Parametric vs. non-parametric tests. *Early Human Development*, *123*, 48–49.

Greer, G. G., & Dilts, B. D. (1995). Lactic acid inhibition of the growth of spoilage bacteria and cold tolerant pathogens on pork. *International Journal of Food Microbiology*, *25*(2), 141–151.

Greer, G. G., & Jones, S. D. M. (1997). Quality and bacteriological consequences of beef carcass spray-chilling: Effects of spray duration and boxed beef storage temperature. *Meat Science*, *45*(1), 61–73.

Guerrero, I., Mendiolea, R., Ponce, E., & Prado, A. (1995). Inoculation of lactic acid bacteria on meat surfaces as a means of decontamination in semitropical conditions. *Meat Science*, *40*(3), 397–411.

Guillard, V., Couvert, O., Stahl, V., Hanin, A., Denis, C., Huchet, V., Chaix, E., Loriot, C., Vincelot, T., & Thuault, D. (2016). Validation of a predictive model coupling gas transfer and microbial growth in fresh food packed under modified atmosphere. *Food Microbiology*, *58*, 43–55.

Guillou, S., Lerasle, M., Simonin, H., Anthoine, V., Chéret, R., Federighi, M., & Membré, J.-M. (2016). Multi-criteria framework as an innovative tradeoff approach to determine the shelf-life of high pressure-treated poultry. *International Journal of Food Microbiology*, *233*, 60–72.

Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., van Otterdijk, R., & Meybeck, A. (2011). Global food losses and food waste. Extent, causes and prevention. *FAO*.

Gustavsson, P., & Borch, E. (1993). Contamination of beef carcasses by psychrotrophic *Pseudomonas* and *Enterobacteriaceae* at different stages along the processing line. *International Journal of Food Microbiology*, *20*(2), 67–83.

Hasapidou, A., & Savvaidis, I. N. (2011). The effects of modified atmosphere packaging, EDTA and oregano oil on the quality of chicken liver meat. *Food Research International*, *44*(9), 2751–2756.

Hauge, S. J., Wahlgren, M., Røtterud, O.-J., & Nesbakken, T. (2011). Hot water surface pasteurisation of lamb carcasses: Microbial effects and cost-benefit considerations. *International Journal of Food Microbiology*, *146*(1), 69–75.

Henchion, M., McCarthy, M., Resconi, V. C., & Troy, D. (2014). Meat consumption: Trends and quality matters. *Meat Science*, *98*(3), 561–568.

Herbert, U., Rossaint, S., Khanna, M. A. M.-A., & Kreyenschmidt, J. (2013). Comparison of argon-based and nitrogen-based modified atmosphere packaging on bacterial growth and product quality of chicken breast fillets. *Poultry Science*, *92*(5), 1348–1356.

Hernández-Macedo, M. L., Contreras-Castillo, C. J., Tsai, S. M., Da Cruz, S. H., Sarantopoulos, C. I. G. L., Padula, M., & Dias, C. T. S. (2012). Gases and volatile compounds associated with micro-organisms in blown pack spoilage of Brazilian vacuum-packed beef. *Letters in Applied Microbiology*, *55*(6), 467–475.

Higueras, L., López-Carballo, G., Hernández-Muñoz, P., Catalá, R., & Gavara, R. (2014). Antimicrobial packaging of chicken fillets based on the release of carvacrol from chitosan/cyclodextrin films. *International Journal of Food Microbiology*, *188*, 53–59.

Hilgarth, M., Nani, M., & Vogel, R. F. (2018). Assertiveness of meat-borne *Lactococcus piscium* strains and their potential for competitive exclusion of spoilage bacteria *in situ* and *in vitro*. *Journal of Applied Microbiology*, *124*(5), 1243–1253.

Höll, L., Behr, J., & Vogel, R. F. (2016). Identification and growth dynamics of meat spoilage microorganisms in modified atmosphere packaged poultry meat by MALDI-TOF MS. *Food Microbiology*, *60*, 84–91.

Holley, R. A., Doyon, G., Fortin, J., Rodrigue, N., & Carbonneau, M. (1996). Post-process, packaging-induced fermentation of delicatessen meats. *Food Research International*, *29*(1), 35–48.

Holley, R. A., & McKellar, R. C. (1996). Influence of unsliced delicatessen meat freshness upon bacterial growth in subsequently prepared vacuum packed slices. *International Journal of Food Microbiology*, *29*(2), 297–309.

Holm, E. S., Schäfer, A., Koch, A. G., & Petersen, M. A. (2013). Investigation of spoilage in saveloy samples inoculated with four potential spoilage bacteria. *Meat Science*, *93*(3), 687–695.

Holm, E. S., Schäfer, A., Skov, T., Koch, A. G., & Petersen, M. A. (2012). Identification of chemical markers for the sensory shelf-life of saveloy. *Meat Science*, *90*(2), 314–322.

Houtsma, P. C., de Wit, J. C., & Rombouts, F. M. (1993). Minimum inhibitory concentration (MIC) of sodium lactate for pathogens and spoilage organisms occurring in meat products. *International Journal of Food Microbiology*, *20*(4), 247–257.

Huang, C.-C., & Lu, Z. (2016). Community challenges in biomedical text mining over 10 years: success, failure and the future. *Briefings in Bioinformatics*, *17*(1), 132–144.

Huis in't Veld, J. H. J. (1996). Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *International Journal of Food Microbiology*, *33*(1), 1–18.

Hultman, J., Rahkila, R., Ali, J., Rousu, J., & Björkroth, K. J. (2015). Meat processing plant microbiome and contamination patterns of cold-tolerant bacteria causing food safety and spoilage risks in the manufacture of vacuum-packaged cooked sausages. *Applied and Environmental Microbiology*, *81*(20), 7088–7097.

ICMSF. (1986). *Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications*.

Illeghems, K., Weckx, S., & De Vuyst, L. (2015). Applying meta-pathway analyses through metagenomics to identify the functional properties of the major bacterial communities of a single spontaneous cocoa bean fermentation process sample. *Food Microbiology*, *50*, 54–63.

Incoronato AL, G. D. (2015). Use of antimicrobial treatments and modified atmosphere to extend the shelf life of fresh sausages. *Journal of Food Processing {\&} Technology*, *06*(06).

ISO. (1994). *Sensory analysis - identification and selection of descriptors for establishing a sensory profile by a multi-dimensional approach* (Vol. 11035).

Iulietto, M. F., Sechi, P., Borgogni & Beniamino, E., & Cenci-Goga, T. T. (2015). Meat spoilage: a critical review of a neglected alteration due to ropy slime producing bacteria. *Italian Journal of Animal Science*, *14*, 4011.

Jääskeläinen, E., Hultman, J., Parshintsev, J., Riekkola, M.-L., & Björkroth, J. (2016). Development of spoilage bacterial community and volatile compounds in chilled beef under vacuum or high oxygen atmospheres. *International Journal of Food Microbiology*, *223*, 25–32.

Jääskeläinen, E., Johansson, P., Kostiainen, O., Nieminen, T. T., Schmidt, G., Somervuo, P., Mohsina, M., Vanninen, P., Auvinen, P., & Björkroth, J. (2013). Significance of heme-based respiration in meat spoilage caused by *Leuconostoc gasicomitatum*. *Applied and Environmental Microbiology*, *79*(4), 1078–1085.

Jakobsen, M., & Bertelsen, G. (2002). The use of CO2 in packaging of fresh red meats and its effect on chemical quality changes in the meat: A review. *Journal of Muscle Foods*, *13*(2), 143–168.

Jameson, D. A., Williams, J. A., & Wilton, E. W. (1962). Vegetation and soils of fishtail Mesa, Arizona. *Ecology*, *43*(3), 403–410.

Jiang, T., & Bratcher, C. L. (2016). Differentiation of commercial ground beef products and

correlation between metabolites and sensory attributes: A metabolomic approach. *Food Research International*, *90*, 298–306.

Kalschne, D. L., Geitenes, S., Veit, M. R., Sarmento, C. M. P., & Colla, E. (2014). Growth inhibition of lactic acid bacteria in ham by nisin: A model approach. *Meat Science*, *98*(4), 744–752.

Kamat, A. S., Khare, S., Doctor, T., & Nair, P. M. (1997). Control of *Yersinia enterocolitica* in raw pork and pork products by γirradiation. *International Journal of Food Microbiology*, *36*(1), 69–76.

Kapetanakou, A. E., Agathaggelou, E. I., & Skandamis, P. N. (2014). Storage of pork meat under modified atmospheres containing vapors from commercial alcoholic beverages. *International Journal of Food Microbiology*, *178*, 65–75.

Kaur, M., Shang, H., Tamplin, M., Ross, T., & Bowman, J. P. (2017). Culture-dependent and culture-independent assessment of spoilage community growth on VP lamb meat from packaging to past end of shelf-life. *Food Microbiology*, *68*, 71–80.

Kiermeier, A., Tamplin, M., May, D., Holds, G., Williams, M., & Dann, A. (2013). Microbial growth, communities and sensory characteristics of vacuum and modified atmosphere packaged lamb shoulders. *Food Microbiology*, *36*(2), 305–315.

Korkeala, H., Lindroth, S., Suihko, M., Kuhmonen, A., & Penttilä, P.-L. (1985). Microbiological and sensory quality changes in blood pancakes and cooked ring sausage during storage. *International Journal of Food Microbiology*, *2*(5), 279–292.

Koutsoumanis, K. P., Stamatiou, A. P., Drosinos, E. H., & Nychas, G. J. E. (2008). Control of spoilage microorganisms in minced pork by a self-developed modified atmosphere induced by the respiratory activity of meat microflora. *Food Microbiology*, *25*(7), 915–921.

Kummu, M., de Moel, H., Porkka, M., Siebert, S., Varis, O., & Ward, P. J. (2012). Lost food, wasted resources: Global food supply chain losses and their impacts on freshwater, cropland, and fertiliser use. *Science of the Total Environment*, *438*, 477–489.

Kuswandi, B., & Nurfawaidi, A. (2017). On-package dual sensors label based on pH indicators for real-time monitoring of beef freshness. *Food Control*, *82*, 91–100.

Kuuliala, L., Abatih, E., Ioannidis, A.-G., Vanderroost, M., De Meulenaer, B., Ragaert, P., & Devlieghere, F. (2018). Multivariate statistical analysis for the identification of potential seafood spoilage indicators. *Food Control*, *84*, 49–60.

La Storia, A., Ferrocino, I., Torrieri, E., Di Monaco, R., Mauriello, G., Villani, F., & Ercolini, D. (2012). A combination of modified atmosphere and antimicrobial packaging to extend the shelf-life of beefsteaks stored at chill temperature. *International Journal of Food Microbiology*, *158*(3), 186–194.

Labadie, J. (1999). Consequences of packaging on bacterial growth. Meat is an ecological niche. *Meat Science*, *52*(3), 299–305.

Lacroix, M., Smoragiewicz, W., Jobin, M., Latreille, B., & Krzystyniak, K. (2000). Protein quality and microbiological changes in aerobically- or vacuum-packaged, irradiated fresh pork loins. *Meat Science*, *56*(1), 31–39.

Lacroix, M., Smoragiewicz, W., Jobin, M., Latreille, B., & Krzystyniak, K. (2002). The effect of irradiation of fresh pork loins on the protein quality and microbiological changes in aerobically—or vacuum-packaged. *Radiation Physics and Chemistry*, *63*(3), 317–322.

Lambropoulou, K. A., Drosinos, E. H., & Nychas, G. J. E. (1996). The effect of glucose supplementation on the spoilage microflora and chemical composition of minced beef stored aerobically or under a modified atmosphere at 4 °C. *International Journal of Food Microbiology*, *30*(3), 281–291.

Latou, E., Mexis, S. F., Badeka, A. V., Kontakos, S., & Kontominas, M. G. (2014). Combined effect of chitosan and modified atmosphere packaging for shelf life extension of chicken breast fillets. *LWT - Food Science and Technology*, *55*(1), 263–268.

Lavieri, N., & Williams, S. K. (2014). Effects of packaging systems and fat concentrations on microbiology, sensory and physical properties of ground beef stored at 4±1°C for 25 days. *Meat Science*, *97*(4), 534–541.

Ledenbach, L. H., & Marshall, R. T. (2009). Microbiological Spoilage of Dairy Products. In *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages* (pp. 41–67). Springer New York.

Lerasle, M., Federighi, M., Simonin, H., Anthoine, V., Rezé, S., Chéret, R., & Guillou, S. (2014). Combined use of modified atmosphere packaging and high pressure to extend the shelf-life of raw poultry sausage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *23*, 54–60.

Leroy, F., Vasilopoulos, C., Van Hemelryck, S., Falony, G., & De Vuyst, L. (2009). Volatile analysis of spoiled, artisan-type, modified-atmosphere-packaged cooked ham stored under different temperatures. *Food Microbiology*, *26*(1), 94–102.

Leticia, M., Paola, D., Jordi, O., Julio, O., & Sancho, B. (2017). Effects of sage distillation by-product (*Salvia lavandulifolia* Vahl.) dietary supplementation in light lambs fed on concentrates on meat shelf life and fatty acid composition. *Meat Science*, *134*, 44–53.

Leygonie, C., Britz, T. J., & Hoffman, L. C. (2011). Protein and lipid oxidative stability of fresh ostrich *M. Iliofibularis* packaged under different modified atmospheric packaging conditions. *Food Chemistry*, *127*(4), 1659–1667.

Li, M., Tian, L., Zhao, G., Zhang, Q., Gao, X., Huang, X., & Sun, L. (2014). Formation of biogenic amines and growth of spoilage-related microorganisms in pork stored under different packaging conditions applying PCA. *Meat Science*, *96*(1), 843–848.

Limbo, S., Torri, L., Sinelli, N., Franzetti, L., & Casiraghi, E. (2010). Evaluation and predictive modeling of shelf life of minced beef stored in high-oxygen modified atmosphere packaging at different temperatures. *Meat Science*, *84*(1), 129–136.

Lindahl, G., Lundstrom, K., & Tornberg, E. (2001). Contribution of pigment content, myoglobin forms and internal reflectance to the colour of pork loin and ham from pure breed pigs. *Meat Science*, *59*(2), 141–151.

Linton, M., Connolly, M., Houston, L., & Patterson, M. F. (2014). The control of *Clostridium botulinum* during extended storage of pressure-treated, cooked chicken. *Food Control*, *37*, 104–108.

Liu, F., Yang, R. Q., & Li, Y. F. (2006). Correlations between growth parameters of spoilage micro-organisms and shelf-life of pork stored under air and modified atmosphere at -2, 4 and 10°C. *Food Microbiology*, *23*(6), 578–583.

Llobell, F., Cariou, V., Vigneau, E., Labenne, A., & Qannari, E. M. (2018). Analysis and clustering of multiblock datasets by means of the STATIS and CLUSTATIS methods. Application to sensometrics. *Food Quality and Preference*.

Llobell, F., Vigneau, E., Cariou, V., & Qannari, E. M. (2019). *ClustBlock: Clustering of datasets. R packaging version 1.0.0*.

Lorenzo, J. M., & Gómez, M. (2012). Shelf life of fresh foal meat under MAP, overwrap and vacuum packaging conditions. *Meat Science*, *92*(4), 610–618.

Love, J. D., & Pearson, A. M. (1971). Lipid oxidation in meat and meat products: A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *48*(10), 547–549.

Lucquin, I., Zagorec, M., Champomier-Vergès, M.-C., & Chaillou, S. (2012). Fingerprint of lactic acid bacteria population in beef carpaccio is influenced by storage process and seasonal changes. *Food Microbiology*, *29*(2), 187–196.

Luño, M., Beltrán, J. A., & Roncalés, P. (1998). Shelf-life extension and colour stabilisation of beef packaged in a low O2 atmosphere containing CO: Loin steaks and ground meat. *Meat Science*, *48*(1), 75–84.

Luong, N.-D. M., Coroller, L., Zagorec, M., Membré, J.-M., & Guillou, S. (2020). Spoilage of chilled fresh meat products during storage: a quantitative analysis of literature data. *Microorganisms*, *8*(8), 1198.

Luong, N.-D. M., Jeuge, S., Coroller, L., Feurer, C., Desmonts, M.-H., Moriceau, N., Anthoine, V., Gavignet, S., Rapin, A., Frémaux, B., Robieu, E., Zagorec, M., Membré, J.-M., & Guillou, S. (2020). Spoilage of fresh turkey and pork sausages: Influence of potassium lactate and modified atmosphere packaging. *Food Research International*, *137*, 109501.

Maas, M. R., Glass, K. A., & Doyle, M. P. (1989). Sodium lactate delays toxin production by *Clostridium botulinum* in cook-in-bag turkey products. *Applied and Environmental Microbiology*, *55*(9), 2226–2229.

Mace, S., Cardinal, M., Jaffres, E., Cornet, J., Lalanne, V., Chevalier, F., Serot, T., Pilet, M.-F., Dousset, X., & Joffraud, J.-J. (2014). Evaluation of the spoilage potential of bacteria isolated from spoiled cooked whole tropical shrimp (*Penaeus vannamei*) stored

under modified atmosphere packaging. *Food Microbiology*, *40*, 9–17.

Magrinyà, N., Terjung, N., Loeffler, M., Gibis, M., Bou, R., & Weiss, J. (2015). Influence of fat addition on the antimicrobial activity of sodium lactate, lauric arginate and methylparaben in minced meat. *International Journal of Food Microbiology*, *215*, 86–94.

Mäkelä, P., & Korkeala, H. (1987). Lactobacillus contamination of cooked ring sausages at sausage processing plants. *International Journal of Food Microbiology*, *5*(4), 323–330.

Malakar, P. K., Martens, D. E., Zwietering, M. H., Béal, C., & van 't Riet, K. (1999). Modelling the interactions between *Lactobacillus curvatus* and *Enterobacter cloacae*: II. Mixed cultures and shelf life predictions. *International Journal of Food Microbiology*, *51*(1), 67–79.

Manios, S. G., Lambert, R. J. W., & Skandamis, P. N. (2014). A generic model for spoilage of acidic emulsified foods: Combining physicochemical data, diversity and levels of specific spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, *170*, 1–11.

Mann, E., Wetzels, S. U., Pinior, B., Metzler-Zebeli, B. U., Wagner, M., & Schmitz-Esser, S. (2016). Psychrophile spoilers dominate the bacterial microbiome in musculature samples of slaughter pigs. *Meat Science*, *117*, 36–40.

Manzano, S., Ordoz, J. A., De La Hoz, L., & Fernadez, M. (2005). A rapid method for the estimation of the microbiological quality of refrigerated raw milk based on the aminopeptidase activity of Gram-negative bacteria. *International Dairy Journal*, *15*, 79–84.

Martinez, L., Djenane, D., Cilla, I., Beltran, J. A., & Roncalés, P. (2006). Effect of varying oxygen concentrations on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. *Food Chemistry*, *94*(2), 219–225.

Martinez, L., Djenane, D., Cilla, I., Beltrán, J. A., & Roncales, P. (2005). Effect of different concentrations of carbon dioxide and low concentration of carbon monoxide on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. *Meat Science*, *71*(3), 563–570.

Masana, M. O., Barrio, Y. X., Palladino, P. M., Sancho, A. M., & Vaudagna, S. R. (2015). High pressure treatments combined with sodium lactate to inactivate *Escherichia coli* O157:H7 and spoilage microbiota in cured beef carpaccio. *Food Microbiology*, *46*, 610–617.

Matamoros, S., Pilet, M. F., Gigout, F., Prévost, H., & Leroi, F. (2009). Selection and evaluation of seafood-borne psychrotrophic lactic acid bacteria as inhibitors of pathogenic and spoilage bacteria. *Food Microbiology*, *26*(6), 638–644.

Mataragas, M., Zwietering, M. H., Skandamis, P. N., & Drosinos, E. H. (2010). Quantitative microbiological risk assessment as a tool to obtain useful information for risk managers — Specific application to *Listeria monocytogenes* and ready-to-eat meat products. *International Journal of Food Microbiology*, *141*, S170–S179.

Mazerolles, G., Hanafi, M., Dufour, E., Bertrand, D., & Qannari, E. M. (2006). Common components and specific weights analysis: A chemometric method for dealing with complexity of food products. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, *81*(1), 41–49.

McDonald, K., & Sun, D. W. (1999). Predictive food microbiology for the meat industry: A review. In *International Journal of Food Microbiology* (Vol. 52, Issues 1–2, pp. 1–27). Elsevier.

McKellar, R. C., & Lu, X. (2004). *Modeling Microbial Responses in Food* (C. series in contemporary food Science (Ed.)).

McMeekin, T. A., Mellefont, L. A., & Ross, T. (2007). Predictive microbiology: Past, present and future. In *Modelling Microorganisms in Food* (pp. 7–21). Elsevier Ltd.

McMeekin, T. A., & Ross, T. (1996). Shelf life prediction: status and future possibilities. *International Journal of Food Microbiology*, *33*, 65–83.

McMeekin, T. A., Ross, T., & Olley, J. (1992). Application of predictive microbiology to assure the quality and safety of fish and fish products. In *International Journal of Food Microbiology* (Vol. 15, Issues 1–2, pp. 13–32). Elsevier.

McMillin, K. W. (2008). Where is MAP Going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. *Meat Science*, *80*(1), 43–65.

McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). *phyloseq*: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLoS ONE*, *8*(4), e61217.

Mejlholm, O., & Dalgaard, P. (2007). Modeling and predicting the growth of Lactic Acid Bacteria in lightly preserved seafood and their inhibiting effect on *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, *70*(11), 2485–2497.

Mellefont, L. A., McMeekin, T. A., & Ross, T. (2008). Effect of relative inoculum concentration on *Listeria monocytogenes* growth in co-culture. *International Journal of Food Microbiology*, *121*(2), 157–168.

Menichelli, E., Almøy, T., Tomic, O., Olsen, N. V., & Næs, T. (2014). SO-PLS as an exploratory tool for path modelling. *Food Quality and Preference*, *36*, 122–134.

Mevik, B.-H. (2019). *Introduction to the pls Package*.

Mikš-Krajnik, M., Yoon, Y.-J., Ukuku, D. O., & Yuk, H.-G. (2016). Identification and quantification of volatile chemical spoilage indexes associated with bacterial growth dynamics in aerobically stored chicken. *Journal of Food Science*, *81*(8), M2006–M2014.

Min, J.-S., Lee, S.-O., Jang, A., Jo, C., & Lee, M. (2007). Irradiation and organic acid treatment for microbial control and the production of biogenic amines in beef and pork. *Food Chemistry*, *104*(2), 791–799.

Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., & Altman, D. G. (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *Annals of Internal*

Medicine, *151*(4), 264.

Mohsina, K., Ratkowsky, D. A., Bowman, J. P., Powell, S., Kaur, M., & Tamplin, M. L. (2020). Effect of glucose, pH and lactic acid on *Carnobacterium maltaromaticum*, *Brochothrix thermosphacta* and *Serratia liquefaciens* within a commercial heat-shrunk vacuum-package film. *Food Microbiology*, *91*, 103515.

Mounier, J., Monnet, C., Vallaeys, T., Arditi, R., Sarthou, A.-S., Hélias, A., & Irlinger, F. (2008). Microbial interactions within a cheese microbial community. *Applied and Environmental Microbiology*, *74*(1), 172–181.

Muermans, M. L. T., Stekelenburg, F. K., Zwietering, M. H., & Huis in 't Veld, J. H. J. (1993). Modelling of the microbiological quality of meat. *Food Control*, *4*(4), 216–221.

Murphy, K. M., O'Grady, M. N., & Kerry, J. P. (2013). Effect of varying the gas headspace to meat ratio on the quality and shelf-life of beef steaks packaged in high oxygen modified atmosphere packs. *Meat Science*, *94*(4), 447–454.

Musavu Ndob, A., & Lebert, A. (2018). Prediction of pH and aw of pork meat by a thermodynamic model: New developments. *Meat Science*, *138*, 59–67.

Myers, R. H. (1990). *Classical and modern regression with applications* (Sliema Dux).

Narasimha Rao, D., & Sreenivasamurthy, V. (1986). A preliminary study of the effect of urea in the preservation of meat. *Meat Science*, *17*(4), 251–265.

Nattress, F. M., & Baker, L. P. (2003). Effects of treatment with lysozyme and nisin on the microflora and sensory properties of commercial pork. *International Journal of Food Microbiology*, *85*(3), 259–267.

Nerbrink, E., & Borch, E. (1993). Evaluation of bacterial contamination at separate processing stages in emulsion sausage production. *International Journal of Food Microbiology*, *20*(1), 37–44.

NF EN ISO. (2007). *Sensory analysis - methodology - triangle test* (Vol. 4120).

NF EN ISO. (2016). *Sensory analysis - methodology - general guidance for establishing a sensory profile* (Vol. 13299).

NF ISO. (2006). *Sensory analysis - methodology - initiation and training of assessors in the detection and recognition of odours* (Vol. 5496).

NF ISO. (2010). *Sensory analysis - General guidance for the design of test rooms - Analyse sensorielle* (Vol. 8589).

NF ISO. (2017). *Sensory analysis - Methodology - General guidance* (Vol. 6658).

Nguyen-the, C., & Carlin, F. (1994). The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *34*(4), 371–401.

Nieminen, T. T., Dalgaard, P., & Björkroth, J. (2016). Volatile organic compounds and *Photobacterium phosphoreum* associated with spoilage of modified-atmosphere-

packaged raw pork. *International Journal of Food Microbiology*, *218*, 86–95.

Noonpakdee, W., Santivarangkna, C., Jumriangrit, P., Sonomoto, K., & Panyim, S. (2003). Isolation of nisin-producing *Lactococcus lactis* WNC 20 strain from nham, a traditional Thai fermented sausage. *International Journal of Food Microbiology*, *81*(2), 137–145.

Nordvi, B., Langsrud, Ø., Egelandsdal, B., Slinde, E., Vogt, G., Gutierrez, M., & Olsen, E. (2007). Characterization of volatile compounds in a fermented and dried fish product during cold storage. *Journal of Food Science*, *72*(6), S373–S380.

Nortjé, K., Buys, E. M., & Minnaar, A. (2005). Effect of *gamma*-irradiation on the sensory quality of moist beef biltong. *Meat Science*, *71*(4), 603–611.

Nowak, A., Kalemba, D., Krala, L., Piotrowska, M., & Czyzowska, A. (2012). The effects of thyme (*Thymus vulgaris*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oils on *Brochothrix thermosphacta* and on the shelf life of beef packaged in high-oxygen modified atmosphere. *Food Microbiology*, *32*(1), 212–216.

Ntzimani, A. G., Giatrakou, V. I., & Savvaidis, I. N. (2010). Combined natural antimicrobial treatments (EDTA, lysozyme, rosemary and oregano oil) on semi cooked coated chicken meat stored in vacuum packages at 4°C: Microbiological and sensory evaluation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *11*(1), 187–196.

Odeyemi, O. A., Alegbeleye, O. O., Strateva, M., & Stratev, D. (2020). Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in foods of animal origin. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *19*(2), 311–331.

Olley, J., & Quarmby, A. R. (1981). Spoilage of fish from Hong Kong at different storage temperatures. Prediction of storage life at higher temperatures, based on storage behaviour at 0°C, and a simple visual technique for comparing taste panel and objective assessments of deterioration. *Trop. Sci.*, *23*, 147–153.

Olley, J., & Ratkowsky, D. A. (1973). Temperature function itegration and its importance in the storage and distribution of fresh foods above the freezing point. *Food Technology*, *8*(2).

Onan, A., Korukoğlu, S., & Bulut, H. (2016). Ensemble of keyword extraction methods and classifiers in text classification. *Expert Systems with Applications*, *57*, 232–247.

Ortuño, J., Serrano, R., & Bañón, S. (2015). Antioxidant and antimicrobial effects of dietary supplementation with rosemary diterpenes (carnosic acid and carnosol) vs vitamin E on lamb meat packed under protective atmosphere. *Meat Science*, *110*, 62–69.

Ortuño, J., Serrano, R., Jordán, M. J., & Bañón, S. (2014). Shelf life of meat from lambs given essential oil-free rosemary extract containing carnosic acid plus carnosol at 200 or 400mgkg−1. *Meat Science*, *96*(4), 1452–1459.

Osés, S. M., Diez, A. M., Gómez, E. M., Wilches-Pérez, D., Luning, P. A., Jaime, I., & Rovira, J. (2015). Control of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* in suckling-lamb meat evaluated using microbial challenge tests. *Meat Science*, *110*, 262–269.

Palumbo, S. A. (1988). The growth of *Aeromonas hydrophila* K144 in ground pork at 5°C. *International Journal of Food Microbiology*, *7*(1), 41–48.

Panea, B., Ripoll, G., González, J., Fernández-Cuello, Á., & Albertí, P. (2014). Effect of nanocomposite packaging containing different proportions of ZnO and Ag on chicken breast meat quality. *Journal of Food Engineering*, *123*, 104–112.

Papadopoulou, O. S., Tassou, C. C., Schiavo, L., Nychas, G.-J. E., & Panagou, E. Z. (2011). Rapid assessment of meat quality by means of an electronic nose and Support Vector Machines. *Procedia Food Science*, *1*, 2003–2006.

Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E., & Kotzekidou, P. (2003). Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Science*, *65*(2), 859–867.

Paparella, A., Mazzarrino, G., Chaves-López, C., Rossi, C., Sacchetti, G., Guerrieri, O., & Serio, A. (2016). Chitosan boosts the antimicrobial activity of *Origanum vulgare* essential oil in modified atmosphere packaged pork. *Food Microbiology*, *59*, 23–31.

Parlapani, F. F., Ferrocino, I., Michailidou, S., Argiriou, A., Haroutounian, S. A., Kokokiris, L., Rantsiou, K., & Boziaris, I. S. (2020). Microbiota and volatilome profile of fresh and chill-stored deepwater rose shrimp (*Parapenaeus longirostris*). *Food Research International*, *132*, 109057.

Patterson, M. F., McKay, A. M., Connolly, M., & Linton, M. (2010). Effect of high pressure on the microbiological quality of cooked chicken during storage at normal and abuse refrigeration temperatures. *Food Microbiology*, *27*(2), 266–273.

Pavelková, A., Kačániová, M., Horská, E., Rovná, K., Hleba, L. L. L. L., & Petrová, J. (2014). The effect of vacuum packaging, EDTA, oregano and thyme oils on the microbiological quality of chicken's breast. *Anaerobe*, *29*, 128–133.

Pavli, F., Argyri, A. A., Nychas, G.-J. E., Tassou, C., & Chorianopoulos, N. (2018). Use of Fourier transform infrared spectroscopy for monitoring the shelf life of ham slices packed with probiotic supplemented edible films after treatment with high pressure processing. *Food Research International*, *106*, 1061–1068.

Peleg, M. (1997). Modeling microbial populations with the original and modified versions of the continuous and discrete logistic equations. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *37*(5), 471–490.

Pellissery, A. J., Vinayamohan, P. G., Amalaradjou, M. A. R., & Venkitanarayanan, K. (2019). Spoilage bacteria and meat quality. *Meat Quality Analysis: Advanced Evaluation Methods, Techniques, and Technologies*, 307–334.

Pereira, J. A., Dionísio, L., Patarata, L., & Matos, T. J. S. (2015). Effect of packaging technology on microbiological and sensory quality of a cooked blood sausage, *Morcela de Arroz*, from Monchique region of Portugal. *Meat Science*, *101*, 33–41.

Petrou, S., Tsiraki, M., Giatrakou, V., & Savvaidis, I. N. (2012). Chitosan dipping or oregano

oil treatments, singly or combined on modified atmosphere packaged chicken breast meat. *International Journal of Food Microbiology*, *156*(3), 264–271.

Pin, C., García de Fernando, G. D., & Ordóñez, J. A. (2002). Effect of modified atmosphere composition on the metabolism of glucose by *Brochothrix thermosphacta*. *Applied and Environmental Microbiology*, *68*(9), 4441–4447.

Pizarro, C., Esteban-Díez, I., Rodríguez-Tecedor, S., & González-Sáiz, J. M. (2013). A sensory approach for the monitoring of accelerated red wine aging processes using multi-block methods. *Food Quality and Preference*, *28*(2), 519–530.

Plummer, M. (2003). JAGS: A program for analysis of Bayesian graphical models using Gibbs sampling. *Proceedings of the 3rd International Workshop on Distributed Statistical Computing (DSC 2003)*, 20–22.

Poirier, S., Luong, N.-D. M., Anthoine, V., Guillou, S., Membré, J.-M., Moriceau, N., Rezé, S., Zagorec, M., Feurer, C., Frémaux, B., Jeuge, S., Robieu, E., Champomier-Vergès, M., Coeuret, G., Cauchie, E., Daube, G., Korsak, N., Coroller, L., Desriac, N., … Chaillou, S. (2020). Large-scale multivariate dataset on the characterization of microbiota diversity, microbial growth dynamics, metabolic spoilage volatilome and sensorial profiles of two industrially produced meat products subjected to changes in lactate concentration and packaging atmosphere. *Data in Brief*, *30*, 105453.

Poirier, S., Rué, O., Peguilhan, R., Coeuret, G., Zagorec, M., Champomier-Vergès, M.-C., Loux, V., & Chaillou, S. (2018). Deciphering intra-species bacterial diversity of meat and seafood spoilage microbiota using gyrB amplicon sequencing: A comparative analysis with 16S rDNA V3-V4 amplicon sequencing. *PLoS ONE*, *13*(9), e0204629.

Possas, A., Pérez-Rodríguez, F., Valero, A., & García-Gimeno, R. M. (2017). Modelling the inactivation of *Listeria monocytogenes* by high hydrostatic pressure processing in foods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *70*, 45–55.

Pothakos, V., Devlieghere, F., Villani, F., Björkroth, J., & Ercolini, D. (2015). Lactic acid bacteria and their controversial role in fresh meat spoilage. *Meat Science*, *109*, 66–74.

Pouillot, R., & Delignette-Muller, M.-L. (2010). Evaluating variability and uncertainty separately in microbial quantitative risk assessment using two R packages. *International Journal of Food Microbiology*, *142*, 330–340.

Powell, M., Schlosser, W., & Ebel, E. (2004). Considering the complexity of microbial community dynamics in food safety risk assessment. *International Journal of Food Microbiology*, *90*(2), 171–179.

Psomas, A. N., Nychas, G. J., Haroutounian, S. A., & Skandamis, P. N. (2011). Development and validation of a tertiary simulation model for predicting the growth of the food microorganisms under dynamic and static temperature conditions. *Computers and Electronics in Agriculture*, *76*(1), 119–129.

Qannari, E. M., Courcoux, P., & Vigneau, E. (2001). Common components and specific weights analysis performed on preference data. *Food Quality and Preference*, *12*(5–7),

365–368.

Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., & Glöckner, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, *41*(D1), D590.

Quinto, E. J., Marín, J. M., Caro, I., Mateo, J., & Schaffner, D. W. (2018). Bayesian modeling of two- and three-species bacterial competition in milk. *Food Research International*, *105*, 952–961.

R Core Team, D. T. (2017). R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria*.

Rafii, F. (2014). Serratia. In *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition* (pp. 371–375). Elsevier Inc.

Raftery, A. E., & Lewis, S. M. (1992). One long run with diagnostics: Implementation strategies for markov chain monte carlo. *Statistical Science*, *7*(4), 493–497.

Rahkila, R., Nieminen, T. T., Johansson, P., Säde, E., & Björkroth, J. (2012). Characterization and evaluation of the spoilage potential of *Lactococcus piscium* isolates from modified atmosphere packaged meat. *International Journal of Food Microbiology*, *156*(1), 50–59.

Raimondi, S., Nappi, M. R., Sirangelo, T. M., Leonardi, A., Amaretti, A., Ulrici, A., Magnani, R., Montanari, C., Tabanelli, G., Gardini, F., & Rossi, M. (2018). Bacterial community of industrial raw sausage packaged in modified atmosphere throughout the shelf life. *International Journal of Food Microbiology*, *280*, 78–86.

Ramaroson, M., Guillou, S., Rossero, A., Rezé, S., Anthoine, V., Moriceau, N., Martin, J.-L., Duranton, F., & Zagorec, M. (2018). Selection procedure of bioprotective cultures for their combined use with High Pressure Processing to control spore-forming bacteria in cooked ham. *International Journal of Food Microbiology*, *276*, 28–38.

Remenant, B., Jaffrès, E., Dousset, X., Pilet, M.-F., & Zagorec, M. (2015). Bacterial spoilers of food: Behavior, fitness and functional properties. *Food Microbiology*, *45*(PA), 45–53.

Riel, G., Boulaaba, A., Popp, J., & Klein, G. (2017). Effects of parsley extract powder as an alternative for the direct addition of sodium nitrite in the production of mortadella-type sausages – Impact on microbiological, physicochemical and sensory aspects. *Meat Science*, *131*, 166–175.

Rodrigues, J. B. M., Sarantópoulos, C. I. G. L., Bromberg, R., Andrade, J. C., Brunelli, K., Miyagusku, L., Marquezini, M. G., & Yamada, E. A. (2017). Evaluation of the effectiveness of non-irradiated and chlorine-free packaging for fresh beef preservation. *Meat Science*, *125*, 30–36.

Ross, T., Dalgaard, P., & Tienungoon, S. (2000). Predictive modelling of the growth and survival of Listeria in fishery products. *International Journal of Food Microbiology*, *62*, 231–245.

Rossaint, S., Klausmann, S., & Kreyenschmidt, J. (2015). Effect of high-oxygen and oxygen-free modified atmosphere packaging on the spoilage process of poultry breast fillets. *Poultry Science*, *94*(1), 96–103.

Rossini, K., Verdun, S., Cariou, V., Qannari, E. M., & Fogliatto, F. S. (2012). PLS discriminant analysis applied to conventional sensory profiling data. *Food Quality and Preference*, *23*(1), 18–24.

Rouger, A., Moriceau, N., Prévost, H., Remenant, B., & Zagorec, M. (2018). Diversity of bacterial communities in French chicken cuts stored under modified atmosphere packaging. *Food Microbiology*, *70*, 7–16.

Rubio, B., Martínez, B., Sánchez, M. J., Dolores García-Cachán, M., Rovira, J., & Jaime, I. (2007). Study of the shelf life of a dry fermented sausage "salchichon" made from raw material enriched in monounsaturated and polyunsaturated fatty acids and stored under modified atmospheres. *Meat Science*, *76*(1), 128–137.

Rubio, R., Martín, B., Aymerich, M. T., & Garriga, M. (2014). The potential probiotic *Lactobacillus rhamnosus* CTC1679 survives the passage through the gastrointestinal tract and its use as starter culture results in safe nutritionally enhanced fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, *186*, 55–60.

Ruiz Capillas, C., & Jiménez Colmenero, F. (2010). Effect of an argon-containing packaging atmosphere on the quality of fresh pork sausages during refrigerated storage. *Food Control*, *21*(10), 1331–1337.

Säde, E., Murros, A., & Björkroth, J. (2013). Predominant enterobacteria on modified-atmosphere packaged meat and poultry. *Food Microbiology*, *34*(2), 252–258.

Säde, E., Penttinen, K., Björkroth, J., & Hultman, J. (2017). Exploring lot-to-lot variation in spoilage bacterial communities on commercial modified atmosphere packaged beef. *Food Microbiology*, *62*, 147–152.

Sadler, D. N., & Swan, J. E. (1997). Effect of NaCl, polydextrose, and storage conditions on the functional characteristics and microbial quality of pre- and post-rigor salted beef. *Meat Science*, *46*(4), 329–338.

Salinas, Y., Ros-Lis, J. V., Vivancos, J.-L. L., Martínez-Máñez, R., Marcos, M. D., Aucejo, S., Herranz, N., Lorente, I., & Garcia, E. (2014). A novel colorimetric sensor array for monitoring fresh pork sausages spoilage. *Food Control*, *35*(1), 166–176.

Samapundo, S., Ampofo-Asiama, J., Anthierens, T., Xhaferi, R., Van Bree, I., Szczepaniak, S., Goemaere, O., Steen, L., Dhooge, M., Paelinck, H., Dewettinck, K., & Devlieghere, F. (2010). Influence of NaCl reduction and replacement on the growth of *Lactobacillus sakei* in broth, cooked ham and white sauce. *International Journal of Food Microbiology*, *143*(1), 9–16.

Sato, K., Hegarty, G. R. (1971). Warmed-over flavor in cooked meats. *Journal of Food Science*, *36*, 1098–1102.

Saucier, L., Gendron, C., & Gariépy, C. (2000). Shelf life of ground poultry meat stored under modified atmosphere. *Poultry Science*, *79*(12), 1851–1856.

Saucier, Linda. (2016). Microbial spoilage, quality and safety within the context of meat sustainability. *Meat Science*.

Schirmer, B. C., & Langsrud, S. (2010). A dissolving CO2 headspace combined with organic acids prolongs the shelf-life of fresh pork. *Meat Science*, *85*(2), 280–284.

Schlich, P. (1996). Defining and validating assessor compromises about product distances and attribute correlations. In *Data Handling in Science and Technology* (Vol. 16, Issue C, pp. 259–306). Elsevier Ltd.

Schoolfield, R. M., Sharpe, P. J. H., & Magnuson, C. E. (1981). Non-linear regression of biological temperature-dependent rate models based on absolute reaction-rate theory. *Journal of Theoretical Biology*, *88*(4), 719–731.

Senter, S. D., Arnold, J. W., & Chew, V. (2000). APC values and volatile compounds formed in commercially processed, raw chicken parts during storage at 4 and 13°C and under simulated temperature abuse conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *80*(10), 1559–1564.

Serrano, R., & Bañón, S. (2012). Reducing SO2 in fresh pork burgers by adding chitosan. *Meat Science*, *92*(4), 651–658.

Serrano, R., Jordán, M. J., & Bañón, S. (2014). Use of dietary rosemary extract in ewe and lamb to extend the shelf life of raw and cooked meat. *Small Ruminant Research*, *116*(2), 144–152.

Shange, N., Makasi, T. N., Gouws, P. A., & Hoffman, L. C. (2018). The influence of normal and high ultimate muscle pH on the microbiology and colour stability of previously frozen black wildebeest (Connochaetes gnou) meat. *Meat Science*, *135*, 14–19.

Shelef, L. A. (1994). Antimicrobial effects of lactates: a review. *Journal of Food Protection*, *57*(5), 445–450.

Sirocchi, V., Devlieghere, F., Peelman, N., Sagratini, G., Maggi, F., Vittori, S., & Ragaert, P. (2017). Effect of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil combined with different packaging conditions to extend the shelf life of refrigerated beef meat. *Food Chemistry*, *221*, 1069–1076.

Skandamis, P. N., & Nychas, G.-J. E. (2002). Preservation of fresh meat with active and modified atmosphere packaging conditions. *International Journal of Food Microbiology*, *79*(1), 35–45.

Smit, G., Smit, B. A., & Engels, W. J. M. (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. In *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 29, Issue 3 SPEC. ISS., pp. 591–610). Elsevier.

Smolander, M., Alakomi, H. L., Ritvanen, T., Vainionpää, J., & Ahvenainen, R. (2004). Monitoring of the quality of modified atmosphere packaged broiler chicken cuts stored

in different temperature conditions. A. Time-temperature indicators as quality-indicating tools. *Food Control*, *15*(3), 217–229.

Soetaert, K., Petzoldt, T., & Setzer, R. W. (2010). Solving differential equations in R: Package *deSolve*. *Journal of Statistical Software*, *33*(9), 1–25.

Sørheim, O., Nissen, H., Nesbakken, T., Sorheim, O., Nissen, H., & Nesbakken, T. (1999). The storage life of beef and pork packaged in an atmosphere with low carbon monoxide and high carbon dioxide. *Meat Science*, *52*(2), 157–164.

Spencer, R., & Baines, C. R. (1964). The effect of temperature on the spoilage of wet white fish. Storage at constant temperatures between -1°C and 25°C. *Food Technol.*, *18*, 769–772.

Stahl, V., Ndoye, F. T., El Jabri, M., Le Page, J. F., Hezard, B., Lintz, A., Geeraerd, A. H., Alvarez, G., & Thuault, D. (2015). Safety and quality assessment of ready-to-eat pork products in the cold chain. *Journal of Food Engineering*, *148*, 43–52.

Stellato, G., La Storia, A., Filippis, F. De, Borriello, G., Villani, F., & Ercolini, D. (2016). Overlap of spoilage microbiota between meat and meat processing environment in small-scale 2 vs large-scale retail distribution. *Applied and Environmental Microbiology*, *82*(April), 4045–4054.

Stojanović-Radić, Z., Pejčić, M., Joković, N., Jokanović, M., Ivić, M., Šojić, B., Škaljac, S., Stojanović, P., & Mihajilov-Krstev, T. (2018). Inhibition of *Salmonella* Enteritidis growth and storage stability in chicken meat treated with basil and rosemary essential oils alone or in combination. *Food Control*, *90*, 332–343.

Stone, H., Sidel, J., Oliver, S., Woolsey, A., & Singleton, R. C. (2008). Sensory evaluation by Quantitative Descriptive Analysis. In *Descriptive Sensory Analysis in Practice* (pp. 23–34). Food & Nutrition Press, Inc.

Stoops, J., Ruyters, S., Busschaert, P., Spaepen, R., Verreth, C., Claes, J., Lievens, B., & Van Campenhout, L. (2015). Bacterial community dynamics during cold storage of minced meat packaged under modified atmosphere and supplemented with different preservatives. *Food Microbiology*, *48*, 192–199.

Tan, K. H., & Gill, C. O. (1982). Physiological basis of CO2 inhibition of a meat spoilage bacterium, Pseudomonas fluorescens. *Meat Science*, *7*, 9–17.

Tauro, P., Kapoor, K. K., & Yadav, K. S. (1986). *An Introduction to microbiology*. Wiley Eastern.

Tchandao Mangamana, E., Cariou, V., Vigneau, E., Glèlè Kakaï, R. L., & Qannari, E. M. (2019). Unsupervised multiblock data analysis: A unified approach and extensions. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, *194*.

Tenenhaus, M., & Vinzi, V. E. (2005). PLS regression, PLS path modeling and generalized Procrustean analysis: a combined approach for multiblock analysis. *Journal of Chemometrics*, *19*(3), 145–153.

Todorov, H., & Saeys, Y. (2018). Computational approaches for high-throughput single-cell data analysis. *The FEBS Journal*.

Torrieri, E., Russo, F., Di Monaco, R., Cavella, S., Villani, F., & Masi, F. (2011). Shelf life prediction of fresh Italian pork sausage modified atmosphere packed. *Food Science and Technology International*, *17*(3), 223–232.

Tovunac, I., Galić, K., Prpić, T., & Jurić, S. (2011). Effect of packaging conditions on the shelf-life of chicken frankfurters with and without lactate addition. *Food Science and Technology International*, *17*(2), 167–175.

Tremonte, P., Sorrentino, E., Succi, M., Reale, A., Maiorano, G., & Coppola, R. (2005). Shelf life of fresh sausages stored under modified atmospheres. *Journal of Food Protection*, *68*(12), 2686–2692.

Triki, M., Herrero, A. M., Jiménez-Colmenero, F., & Ruiz-Capillas, C. (2013). Effect of preformed konjac gels, with and without olive oil, on the technological attributes and storage stability of merguez sausage. *Meat Science*, *93*(3), 351–360.

Tsakanikas, P., Pavlidis, D., Panagou, E., & Nychas, G.-J. (2016). Exploiting multispectral imaging for non-invasive contamination assessment and mapping of meat samples. *Talanta*, *161*, 606–614.

Vaikousi, H., Biliaderis, C. G., & Koutsoumanis, K. P. (2009). Applicability of a microbial Time Temperature Indicator (TTI) for monitoring spoilage of modified atmosphere packed minced meat. *International Journal of Food Microbiology*, *133*(3), 272–278.

Valero, A., Carrasco, E., Pé Rez-rodr Guez, F., Garc A-gimeno, R. M., & Zurera, G. (2007). Modeling the growth of *Listeria monocytogenes* in pasteurized white asparagus. *Journal of Food Protection*, *70*(3), 753–757.

Van der Vaart, E., Beaumont, M. A., Johnston, A. S. A., & Sibly, R. M. (2015). Calibration and evaluation of individual-based models using Approximate Bayesian Computation. *Ecological Modelling*, *312*(2015), 182–190.

Van Haute, S., Raes, K., Devlieghere, F., & Sampers, I. (2017). Combined use of cinnamon essential oil and MAP/vacuum packaging to increase the microbial and sensorial shelf life of lean pork and salmon. *Food Packaging and Shelf Life*, *12*, 51–58.

Varnam, A. H., & Sutherland, J. P. (1995). *Meat and meat products : technology, chemistry, and microbiology*. Chapman & Hall.

Vasilatos, G. C., & Savvaidis, I. N. (2013). Chitosan or rosemary oil treatments, singly or combined to increase turkey meat shelf-life. *International Journal of Food Microbiology*, *166*(1), 54–58.

Vasilopoulos, C., De Mey, E., Dewulf, L., Paelinck, H., De Smedt, A., Vandendriessche, F., De Vuyst, L., & Leroy, F. (2010). Interactions between bacterial isolates from modified-atmosphere-packaged artisan-type cooked ham in view of the development of a bioprotective culture. *Food Microbiology*, *27*(8), 1086–1094.

Veberg, A., Sørheim, O., Moan, J., Iani, V., Juzenas, P., Nilsen, A. N., & Wold, J. P. (2006). Measurement of lipid oxidation and porphyrins in high oxygen modified atmosphere and vacuum-packed minced turkey and pork meat by fluorescence spectra and images. *Meat Science*, *73*(3), 511–520.

Vereecken, K. M., Dens, E. J., & Van-Impe, J. F. (2000). Predictive modeling of mixed microbial populations in food products: evaluation of two-species models. *Journal of Theoretical Biology*, *205*(1), 53–72.

Vermeiren, L., Devlieghere, F., & Debevere, J. (2004). Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. *International Journal of Food Microbiology*, *96*(2), 149–164.

Vermeiren, L., Devlieghere, F., Vandekinderen, I., & Debevere, J. (2006). The interaction of the non-bacteriocinogenic *Lactobacillus sakei* 10A and lactocin S producing *Lactobacillus sakei* 148 towards Listeria monocytogenes on a model cooked ham. *Food Microbiology*, *23*(6), 511–518.

Vestergaard, J. S., Martens, M., & Turkki, P. (2007). Analysis of sensory quality changes during storage of a modified atmosphere packaged meat product (pizza topping) by an electronic nose system. *LWT - Food Science and Technology*, *40*(6), 1083–1094.

Viana, E. S., Gomide, L. A. M., & Vanetti, M. C. D. (2005). Effect of modified atmospheres on microbiological, color and sensory properties of refrigerated pork. *Meat Science*, *71*(4), 696–705.

Vihavainen, E. J., & Björkroth, J. (2007). Spoilage of value-added, high-oxygen modified-atmosphere packaged raw beef steaks by *Leuconostoc gasicomitatum* and *Leuconostoc gelidum*. *International Journal of Food Microbiology*, *119*(3), 340–345.

Voidarou, C., Vassos, D., Rozos, G., Alexopoulos, A., Plessas, S., Tsinas, A., Skoufou, M., Stavropoulou, E., & Bezirtzoglou, E. (2011). Microbial challenges of poultry meat production. *Anaerobe*, *17*(6), 341–343.

Wang, G., Wang, H., Han, Y., Xing, T., Ye, K., Xu, X., & Zhou, G.-H. (2017). Evaluation of the spoilage potential of bacteria isolated from chilled chicken *in vitro* and *in situ*. *Food Microbiology*, *63*, 139–146.

Wang, J., Zhuang, H., Hinton, A., & Zhang, J. (2016). Influence of in-package cold plasma treatment on microbiological shelf life and appearance of fresh chicken breast fillets. In *Food Microbiology* (Vol. 60).

Whiting, R. C. (1993). Modeling bacterial survival in unfavorable environments. In *Journal of Industrial Microbiology* (Vol. 12).

Wickham, H. (2009). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis (Use R!)*.

Williams, G. (2016). Text Mining. *Hands-On Data Science with R*, *January*, 47.

Wold, H. O. A. (1982). *Soft modeling: The basic design and some extensions* (Joreskog,).

Wold, H. O. A. (1985). *Partial Least Squares*. John Wiley & Sons, Ltd.

Woraprayote, W., Malila, Y., Sorapukdee, S., Swetwiwathana, A., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2016). Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Meat Science*, *120*, 118–132.

Xavier, M. de la P., Dauber, C., Mussio, P., Delgado, E., Maquieira, A., Soria, A., Curuchet, A., Márquez, R., Méndez, C., & López, T. (2014). Use of mild irradiation doses to control pathogenic bacteria on meat trimmings for production of patties aiming at provoking minimal changes in quality attributes. *Meat Science*, *98*(3), 383–391.

Xiao-wei, H., Xiao-bo, Z., Ji-yong, S., Yanin, G., Jie-wen, Z., Jianchun, Z., & Limin, H. (2014). Determination of pork spoilage by colorimetric gas sensor array based on natural pigments. *Food Chemistry*, *145*, 549–554.

Yang, Z. quan, Jiao, X. an, Li, P., Pan, Z. ming, Huang, J. lin, Gu, R. xia, Fang, W. ming, & Chao, G. xiang. (2009). Predictive model of *Vibrio parahaemolyticus* growth and survival on salmon meat as a function of temperature. *Food Microbiology*, *26*(6), 606–614.

Zagorec, M., & Champomier-Vergès, M.-C. (2017). Meat microbiology and spoilage. *Laurie's Meat Science*.

Zeitoun, A. A. M., & Debevere, J. M. (1990). The effect of treatment with buffered lactic acid on microbial decontamination and on shelf life of poultry. *International Journal of Food Microbiology*, *11*(3), 305–311.

Zeitoun, A. A. M., & Debevere, J. M. (1991). Inhibition, survival and growth of *Listeria monocytogenes* on poultry as influenced by buffered lactic acid treatment and modified atmosphere packaging. *International Journal of Food Microbiology*, *14*(2), 161–169.

Zhang, Q. Q., Han, Y. Q., Cao, J. X., Xu, X.-L., Zhou, G.-H., & Zhang, W. Y. (2012). The spoilage of air-packaged broiler meat during storage at normal and fluctuating storage temperatures. *Poultry Science*, *91*, 208–214.

Zhou, G. H., Xu, X. L., & Liu, Y. (2010). Preservation technologies for fresh meat – A review. *Meat Science*, *86*(1), 119–128.

Zwietering, M. H., Jongenburger, I., Rombouts, F. M., & van't Riet, K. (1990). Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology*, *56*(6), 1875–1881.

Zwietering, Marcel H., Wijtzes, T., Rombouts, F. M., & van't Riet, K. (1993). A decision support system for prediction of microbial spoilage in foods. *Journal of Industrial Microbiology*, *12*(3–5), 324–329.

Valorisation des travaux de recherches

Articles publiés

- Luong, N.-D.M., Coroller, L., Zagorec, M., Membré, J.-M., Guillou, S., 2020a. Spoilage of chilled fresh meat products during storage: a quantitative analysis of literature data. *Microorganisms* 8, 1198. https://doi.org/10.3390/microorganisms8081198

- Luong, N.-D.M., Jeuge, S., Coroller, L., Feurer, C., Desmonts, M.-H., Moriceau, N., Anthoine, V., Gavignet, S., Rapin, A., Frémaux, B., Robieu, E., Zagorec, M., Membré, J.-M., Guillou, S., 2020b. Spoilage of fresh turkey and pork sausages : Influence of potassium lactate and modified atmosphere packaging. *Food Research International* 137, 109501. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109501

- Poirier, S., Luong, N.-D.M., Anthoine, V., Guillou, S., Membré, J.-M., Moriceau, N., Rezé, S., Zagorec, M., Feurer, C., Frémaux, B., Jeuge, S., Robieu, E., Champomier-Vergès, M., Coeuret, G., Cauchie, E., Daube, G., Korsak, N., Coroller, L., Desriac, N., Desmonts, M.-H., Gohier, R., Werner, D., Loux, V., Rué, O., Dohollou, M.-H., Defosse, T., Chaillou, S., 2020. Large-scale multivariate dataset on the characterization of microbiota diversity, microbial growth dynamics, metabolic spoilage volatilome and sensorial profiles of two industrially produced meat products subjected to changes in lactate concentration and packaging atmosphere. *Data in Brief*, 105453. https://doi.org/10.1016/j.dib.2020.105453

Articles soumis

- Luong, N.-D.M., Coroller, L., Zagorec, M., Moriceau, N., Anthoine, V., Guillou, S., Membré, J.-M. Acidification of fresh poultry sausages under various lactate and modified atmosphere conditions: a dynamical Bayesian modelling approach *(article soumis au journal International Journal of Food Microbiology)*

- Luong, N.-D.M., Membré, J.-M., Coroller, L., Zagorec, M., Poirier, S., Chaillou, S., Desmonts, M.-H., Werner, D., Cariou, V., Guillou, S. Deciphering specific microbiological spoilage patterns in meat products with Path-ComDim: path modelling from microbiota to volatilome and sensory profiles *(article soumis au journal International Journal of Food Microbiology)*

Communications orales aux congrès nationaux et internationaux

- Luong, N.-D.M. et le consortium REDLOSSES. Réduire les pertes alimentaires par la prédiction de l'altération : les saucisses de porc et de volaille. *Congrès National de la Société Française de Microbiologie, Paris, France, 2018.*

- Luong, N.-D.M., Coroller, L., Membré J.-M., Guillou, S. and the REDLOSSES consortium. Prediction of spoilage occurrence in fresh sausages: Potential role of potassium lactate and modified atmosphere packaging. *IAFP's European Symposium on Food Safety, Nantes, France, 2019.*

- Luong, N.-D.M., Jeuge S., Coroller, L., Feurer, C., Desmonts, M.-H., Moriceau, N., Anthoine, V., Gavignet, S., Rapin, A., Robieu, E., Zagorec, M., Membré, J.-M., Guillou, S. and the REDLOSSES Consortium. Spoilage indicators in fresh pork or poultry sausages: effects of modified atmosphere packaging and potassium lactate. *11th International Conference on Predictive Modelling in Food, Bragança, Portugal, 2019.*

Posters

- Luong, N.-D.M., Moriceau, N., Desmonts, M.-H., Zagorec, M., Coroller, L., Membré, J.-M., Guillou, S. Effects of modified atmosphere packaging and potassium lactate on fresh poultry sausage spoilage. *Food Micro, Berlin, Allemagne, 2018.*

- Luong, N.-D.M., Jeuge, S., Coroller, L., Feurer, C., Desmonts, M.-H., Moriceau, N., Anthoine, V., Gavignet, S., Rapin, A., Robieu, E, Poirier, S., Chaillou, S., Zagorec, M., Membré, J.-M., Guillou, S. and the REDLOSSES consortium. Spoilage occurrence in meat products: a case study on effects of modified atmosphere packaging and potassium lactate on fresh pork and poultry sausages. *Journée Scientifique de l'Ecole Doctorale EGAAL, Rennes, France, 2019.*

DOCTORAT ECOLOGIE BRETAGNE GEOSCIENCES LOIRE AGRONOMIE ALIMENTATION

Oniris
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE, AGROALIMENTAIRE ET DE L'ALIMENTATION
SANTÉ ET ALIMENTATION AU CŒUR DE LA VIE

Titre : Mieux comprendre l'altération microbiologique de saucisses fraîches au travers du prisme de la modélisation

Mots clés : *Modélisation statistique, Viande, Dynamique de l'altération, Microbiote, Intégration de données, Variabilité biologique*

Résumé : Le développement des bactéries pendant le stockage est une cause majeure de l'altération de la viande. Comprendre le lien entre les activités bactériennes et l'évolution de l'altération est difficile en raison de la complexité de l'écosystème alimentaire et nécessite l'intégration des données expérimentales variées. Cette thèse porte sur le développement d'outils statistiques et la modélisation de données hétérogènes issues d'analyses sensorielles, microbiologiques et physico-chimiques, en vue de mieux appréhender l'altération de saucisses fraîches de porc et de volaille. Quatre modèles différents ont été développés. Un modèle à effet mixte permet d'explorer les effets du temps de stockage et des stratégies de maîtrise mises en place au niveau industriel (formulation en lactate et atmosphère protectrice). Un modèle bayésien décrit l'évolution du pH des produits. Trois approches de régression multivariée évaluent le lien entre microbiote initial et dynamique de l'altération. Enfin, une approche d'intégration de données multi-block établit des liens de causalité entre le microbiote, le volatilome et les profils sensoriels.

Ces modèles ont confirmé le caractère dynamique des réponses associées à l'altération. La formulation et l'atmosphère protectrice se sont avérées avoir un effet différent selon le type de viande et la réponse étudiée. Le modèle multi-block a permis d'identifier des espèces bactériennes à l'origine de molécules volatiles responsables de perceptions sensorielles. La progression vers la prédiction de l'altération à partir de données microbiologiques nécessitera d'explorer encore davantage ces modèles adaptés au traitement de données complexes.

Title: Better understanding microbiological spoilage in fresh sausages through the prism of statistical modelling approaches

Keywords: *Statistical modelling, Meat, Spoilage dynamics, Microbiota, Data Integration, Biological Variability*

Abstract: The main cause of spoilage in fresh meat products is associated with the development of bacteria during storage. Understanding the link between bacterial activities and spoilage evolution in meat produced with preservations strategies may be difficult because of microbiota complexity and requires appropriate statistical analyses for integrating experimental data. This work aimed to develop innovative modelling tools in order to better understand microbiological spoilage in fresh poultry and pork sausages by integrating experimental data of microbiota, volatilome and sensorial profiles. Four different models were developed. A mixed-effect model enabled to study effects of lactate formulation and modified atmosphere packaging. A Bayesian model enabled to describe product pH over time. Three regression approaches were developed to evaluate the link between initial microbiota and spoilage dynamics. At last, a multi-block approach was used to identify the causality link between microbiota, volatilome and sensorial profiles.

These models confirmed the dynamical nature of all considered spoilage-related responses. Lactate formulation and MAP revealed to have different effects on spoilage depending on the meat type and the studied response. Specific bacterial groups have been found to be responsible for several volatile compounds responsible producing off-odours. The developed models have several advantages of considering potential biological variability sources and of better analysing complex datasets. Progress towards predicting spoilage from microbiological data will require further exploration of these models suitable for processing complex data.