

1045 Sille

# 12 èmes Journées « Sciences du Muscle et Technologies des Viandes »

8 et 9 octobre 2008 à TOURS

Lieu: Maison des Sports de Touraine Tours-Nord 37210 PARCAY-MESLAY

Les JSMTV: deux jours pour s'informer et échanger sur la recherche, les applications de la recherche et les préoccupations des opérateurs économiques du secteur des viandes et des produits carnés















#### INTRODUCTION

#### Cécile BERRI et Michel DUCLOS

#### INRA – Unité de Recherches Avicoles 37380 NOUZILLY

L'Unité de Recherches Avicoles de l'INRA, le GIS Pôle Viande et l'Institut Technique de l'Aviculture se sont mobilisés pour organiser la 12<sup>ième</sup> édition des JSMTV à Tours. L'organisation de ces journées a en outre bénéficié de l'appui des établissements de recherche-développement ADIV, CTCPA, Institut de l'Elevage et IFIP, et du soutien financier des départements Physiologie Animale et Systèmes d'Élevage, Génétique Animale et Caractérisation et Élaboration des Produits Issus de l'Agriculture de l'INRA, de l'Office de l'Élevage, d'Interbev et du Centre d'Information des Viandes. Cette manifestation s'inscrit dans le cadre des activités d'animation du Pôle de Compétitivité InnoViandes.

La 12<sup>ième</sup> édition des JSMTV est organisée en 5 sessions et une table ronde dont les animateurs ont constitué un Comité Scientifique présidé par Cécile Berri et Michel Duclos.

- Socio-économie des filières viandes et produits carnés : Pascal Mainsant (INRA Ivry) et Yves Dronne (INRA Rennes)
- Technologie et valeur nutritionnelle des produits carnés : Jean-Dominique Daudin (INRA Clermont-Ferrand) et Jacques Mourot (INRA Rennes)
- Génomique : Bernard Coudurier (INRA Paris) et Gilles Renand (INRA Jouy en Josas)
- Bases biologiques de la qualité : Elisabeth Baéza (INRA Tours) et Brigitte Picard (INRA Clermont-Ferrand)
- Hygiène et sécurité : Philippe Velge (INRA Tours) et Pascal Garry (IFIP)
- Table ronde 'Paquet Hygiène : mise en œuvre dans les entreprises, besoins associés en R&D' : Alain Peyron (ADIV)

Chaque session comprend une ou plusieurs conférences sur invitation et des présentations orales courtes sélectionnées parmi les communications proposées. Les sessions de présentation des affiches sont complétées par des ateliers thématiques au cours desquels les auteurs peuvent présenter rapidement leurs travaux et dialoguer avec l'auditoire.

Un document - numéro hors-série de la revue « VIANDES & PRODUITS CARNÉS » - comprenant l'ensemble des communications orales et des posters sera remis à chaque participant. Une version anglaise des textes des conférences invitées sera en outre publiée dans la revue « Sciences des Aliments ».

Plus de 150 participants sont attendus pour suivre les 10 conférences et 21 communications orales, discuter avec les auteurs de 50 affiches et échanger avec les partenaires industriels lors de la table ronde.

Le comité d'organisation local vous souhaite la bienvenue en Touraine et vous remercie de votre contribution à la réussite de cette 12<sup>ième</sup> édition des JSMTV qui sera sans nul doute l'occasion d'échanges fructueux entre le monde scientifique et industriel.

#### Comité scientifique

Elisabeth Baéza (INRA Tours)

Cécile Berri (INRA Tours)

Bernard Coudurier (INRA Paris)

Joseph Culioli (INRA Clermont-Fd)

Jean-Dominique Daudin (INRA

Clermont-Fd)

Christophe Denoyelle (Institut de

l'Élevage)

Yves Dronne (INRA Ivry)

Michel Duclos (INRA Tours)

Pascal Garry (IFIP)

Vérane Gigaud (ITAVI Tours)

Elisabeth Le Bihan-Duval (INRA Tours)

Pascal Mainsant (INRA Ivry)

Jacques Mourot (INRA Rennes)

Alain Peyron (ADIV)

Brigitte Picard (INRA Clermont-Fd)

Gilles Renand (INRA Jouy-en-Josas)

Philippe Velge (INRA Tours)

## Comité d'organisation national

Cécile Berri (INRA Tours)

Joseph Culioli (INRA Clermont-Fd)

Jean-Dominique Daudin (INRA

Clermont-Fd)

Michel Duclos (INRA Tours)

Bernard Fostier (IFIP)

Vérane Gigaud (ITAVI Tours)

Jacques Giroux (INTERBEV)

Florence Lefèvre (INRA Rennes)

Claire Legrain (Office de l'Élevage)

Jacques Lucbert (Institut de l'Élevage)

Pascal Mainsant (INRA Ivry)

Laurent Meunier (Vigie Viande)

Jacques Mourot (INRA Rennes)

Brigitte Picard (INRA Clermont-Fd)

Jean-Pierre Poma (CTCPA)

Gilles Renand (INRA Jouy-en-Josas)

Gilles Salvat (AFSAA)

Michel Saudan (ADIV)

#### Comité d'organisation local

Cécile Berri (INRA Tours)

Michel Duclos (INRA Tours)

Vérane Gigaud (ITAVI)

Elisabeth Le Bihan-Duval (INRA Tours)

Catherine Ménard (Pôle InnoViandes)

Laurent Meunier (Vigie Viande)

### TABLE DES MATIÈRES

Conférence introductive
L'alimentation carnée à travers les âges et les cultures  J. Contreras
Conférences invitées Socio-économie des filières viandes et produits carnés
Les marchés internationaux des matières premières pour l'alimentation animale : évolutions récentes et perspectives Y. Dronne, A. Forslund et F. Levert
Communications orales Socio-économie des filières viandes et produits carnés
Les impacts des hausses de matières premières alimentaires sur les prix de détail par espèce de viande en France P. Mainsant
Conséquences du contexte de prix des matières premières sur la filière avicole P. Magdelaine
Hausse des prix de l'aliment pour les porcs en 2007 : Conséquences pour les coûts, la rentabilité, la compétitivité des produits M. Rieu
L'impact des hausses de prix des matières premières sur la filière viande bovine  J.C. Guesdon
Posters Socio-économie des filières viandes et produits carnés
Le savoir-faire des bouchers et chevillards en matière de choix des animaux et des carcasses  AE. Delavigne
Conférences invitées Technologie et Valeur Nutritionnelle des Produits Carnés
Propriétés nutritionnelles des peptides et protéines de la viande : impact des procédés de transformation D. Rémond, I. Savary-Auzeloux, P. Gatellier et V. Santé-Lhoutellier
La cuisson des viandes et produits carnés et le couplage avec les réactions à l'origine de la qualité A. Kondjoyan
Mise en oeuvre des unités de vente consommateurs industrielles : contraintes technologiques et microbiologiques  L. Picgirard
Communications orales Technologie et Valeur Nutritionnelle des Produits Carnés
Impact de la nature des acides gras dans l'alimentation des porcs sur la qualité des produits de charcuterie - Partie 1 : Effe sur la qualité nutritionnelle M. Guillevic, JE. Blochet, AE. Le Minous, G. Robin et J. Mourot
Un apport d'antioxydants alimentaires chez le bovin en finition peut prévenir la lipoperoxydation des viandes, y compris chez des animaux subissant un stress avant l'abattage M. Gobert, C. Bourguet, C. Terlouw, V. Deiss, E. Parafita, D. Bauchart et D. Durand
Impact du pH ultime sur les qualités technologiques, bactériologiques et gustatives des filets de poulet V. Gigaud, T. Bordeau, E. Le Bihan-Duval et C. Berri

Empreinte peptidique de la fraction protéique soluble du jambon de Bayonne L. Théron, N. Robert, C. Dutertre, JL. Berdagué et V. Santé-Lhoutellier
Stabilisation de filets de thon cru albacore par conditionnement sous vide et traitement Hautes Pressions H. Simonin, C. Guyon, N. Combeaux, C. Correa, L. Coutant, S. Parmentier et M. De Lamballerie
Posters Technologie et Valeur Nutritionnelle des Produits Carnés
Effet des acides gras n-3 de l'aliment sur le développement des adipoyctes intra-musculaires et sur la composition en acides gras des lipides polaires et neutres du muscle de porc C. Avezard, M. Guillevic, C. Gariepy et J. Mourot
Analyse des transferts de matière lors du marinage acide de la viande de boeuf et estimation de la 'Diffusivité' des ions H+ JD. Daudin et A. Lebert
Vers une conduite automatisée de l'etuvage-séchage des saucissons utilisant une estimation de l'assèchement de surface à partir de mesures non invasives et d'un modèle de transfert JD. Daudin et J. Sirami
Impact de la nature des acides gras dans l'alimentation des porcs sur la qualité des produits de charcuterie - Partie 3 : Effet sur les propriétés fonctionnelles des viandes T. De Broucker, AE. Le Minous, JE. Blochet, M. Guillevic et J. Mourot
Intérêt des réseaux bayésiens pour explorer et exploiter les résultats de l'analyse sensorielle : Application au Jambon de Bayonne C. Dutertre, L. Jouffe, N. Robert et I. Duplantier
Effet d'un régime à base de gland de chêne vert sur le profil d'acides gras du muscle Longissimus dorsi du mouton en croissance M. Elaffifi, K. Bouderoua, J. Mourot, R. Keddam et G. Selselet-Attou
Effet de la cuisson de la viande sur l'oxydation des protéines P. Gatellier, K. Yoon, E. Grève, S. Portanguen, A. Kondjoyan et V. Santé-Lhoutellier
L'augmentation de la durée de distribution en acide alpha linolénique se répercute t-elle dans les tissus du porc ?  M. Guillevic, M. Fillaut, M. Kouba et J. Mourot
Etude de la migration des ions lors du marinage de la viande de boeuf dans des solutions d'acide acétique et ou de sel N. Kohli et JB. Gros
Impact de la nature des acides gras dans l'alimentation des porcs sur la qualité des produits de charcuterie - Partie 2 : Effet sur le profil sensoriel et l'acceptabilité des produits  AE. Le Minous, T. De Broucker, JE. Blochet, M. Guillevic et J. Mourot
Effet de la compétition entre l'acide alpha-linolénique (ALA) et l'acide linoléique (LA) sur la composition en acides gras du tissu adipeux sous-cutané et du muscle chez le porc charcutier G. Mairesse, M. Fillaut et J. Mourot
Un apport d'antioxydants alimentaires chez le bovin en finition peut améliorer la stabilité de couleur des viandes, même chez des animaux ayant subi un stress avant l'abattage E. Parafita, S. Vialter, M. Gobert, D. Durand, C. Terlouw, D. Bauchart et A. Peyron91
Emulsification en continu de formulations modèles à base de protéines extraites de poumon de boeuf : effet du xanthane et des conditions opératoires  D. Selmane, C. Vial et G. Djelveh
Analyse de la fraction volatile du jambon de Bayonne L. Théron, P. Tournayre, N. Kondjoyan, V. Santé-Lhoutellier, S. Abouelkaram, N. Robert, C. Dutertre et JL. Berdagué 95
Qualités prédictrices des paramètres de qualité de viande sur le défaut viandes destructurées  A. Vautier, J. Boulard, M. Bouyssière, Y. Houix et B. Minvielle

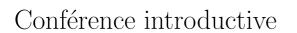
#### Conférences invitées Génomique

Des avancees en génomique fonctionnelle et positionnelle chez les bovins à viande : programmes en cours et potentialités JF. Hocquette, D. Boichard, I. Cassar-Malek, C. Larzul, G. Renand, H. Levéziel et B. Picard
Communications orales Génomique
Association de marqueurs du gène de la Calpaïne 1 avec la tendreté de la viande dans trois races allaitantes Françaises. S. Allais, H. Levéziel, J. Lepetit, S. Rousset, C. Denoyelle, C. Bernard, L. Journaux et G. Renand
Identification de gènes impliqués dans les variations de la qualité des viandes de volailles : étude du transcriptome musculaire chez le poulet V. Sibut, C. Hennequet, Y. Gaudron, E. Le Bihan-Duval, M.J. Duclos et C. Berri
Etude de la tendreté du muscle porcin (Longissimus dorsi) par l'analyse du transcriptome L. Liaubet, V. Lobjois, M. Sancristobal, J. Glenisson, P. Le Roy, F. Hatey et P. Cherel
Posters Génomique
Apport de la protéomique à l'étude de la myogenèse chez le bovin : nouvelles pistes de recherches pour comprendre l'origine de la qualité de la viande  T. Chaze, B. Meunier, C. Chambon et B. Picard
Cibles moléculaires de la myostatine impliquées dans l'hypertrophie musculaire chez la souris et le bovin  I. Chelh, B. Meunier, B. Picard, JF. Hocquette et I. Cassar-Malek
Analyse métabolomique du muscle squelettique - Comparaison de différentes méthodes d'extraction pour la quantification relative du métabolome en LC-MS/MS R. El Rammouz, F. Létisse, Z. Wadih-Moussa et X. Fernandez
Validation de marqueurs protéiques de la tendreté de la viande bovine : choix méthodologiques  N. Guillemin, B. Meunier, H. Levéziel et B. Picard
MUGENE : Approche combinée de génétique, de génomique et de biologie musculaire pour prédire la qualité de la viand- bovine JF. Hocquette, C. Larzul, C. Bernard, B. Picard, I. Cassar-Malek, T. Sayd, J. Lepetit, C. Jurie, B. Meunier, D. Micol, H Levéziel et G. Renand
Conférences invitées Bases Biologiques de la Qualité
La traçabilité analytique des produits carnés  E. Engel et J. Ratel
Déterminisme biologique de la qualité des poissons F. Lefèvre et J. Bugeon
Communications orales Bases Biologiques de la Qualité
Variation de la qualité de viande de porc selon la race et le système d'élevage: dispositif de recherche de marqueurs de la qualit B. Lebret, S. Barthélémy, N. Bonhomme, A. Prunier et JY. Dourmad
Construction d'une grille de notation du 'grain de viande' chez bovins Charolais MP. Oury, R. Dumont et Y. Durand
BIF-Beef: Un entrepôt de données sur la biologie du muscle por prédire la qualité de la viande bovine P. Meurice, JP. Brun, C. Jurie, G. Renand, G. Nute, B. Picard et JF. Hocquette

Expertise scientifique du système australien de prédiction de la qualité sensorielle de la viande bovine (Système MSA)  C. Jurie, I. Moëvi, D. Micol et JF. Hocquette
Meat Destructuration Indicator (MDI): développement d'une méthode permettant de mesurer la déstructuration de la fibre musculaire  L. Sifre, B. André et JP. Coton
Posters Bases Biologiques de la Qualité
Morphologie du sarcolemme de fibres musculaires anoxiques : résultats préliminaires  T. Astruc
Développement d'un modèle in vitro de culture d'adipocytes bovins pour étudier les interactions entre adipocytes, myoblastes et fibroblastes.  M. Bonnet, I. Cassar-Malek, A. Delavaud, M. Tourret, Y. Chilliard et B. Picard
Variabilité individuelle des réactions de stress à l'abattage chez les ovins et les bovins : conséquences sur le métabolisme postmortem
C. Bourguet, V. Deiss, S. Ligout, M. Gobert, J. Bouix, A. Boissy, D. Durand et C. Terlouw
Production de viande en montagne et composition en acides gras du muscle longissimus dorsi chez le bovin de la race d'Hérens - Perspectives de traçabilités PA. Dufey et M. Collomb
Vitesse de chute du pH et profils biochimiques et enzymatiques du muscle pectoral de dinde S. Eadmusik, C. Molette, R. El Rammouz, JF. Hocquette, H. Remignon et X. Fernandez
Régulation du glycogène musculaire et relation avec la qualité de la viande de poulet M. Jlali, V. Sibut, N. Sellier, S. Tesseraud, S. Métayer Coustard, V. Gigaud, M.J. Duclos, E. Le Bihan-Duval et C. Berri 173
Q-porkchains: programme intégré européen de recherches. FP6 - 2007 à 2011  B. Lebret, JY. Dourmad, C. Larzul, E. Laville et M. Bonneau
Sélection génétique sur la réponse au stress et stress à l'abattage: Conséquences sur la qualité de la chair chez la truite arc-enciel F. Lefèvre, I. Cos, T. Pottinger et J. Bugeon
Expression différentielle des composants de la matrice extracellulaire au cours du développement musculaire foetal A. Listrat, E. Jean Dit Gauthier, B. Caterson, B. Picard, C. Lethias et D. Bechet
Utilisation de rations de valeur contrastée sur les caractéristiques des muscles de jeunes bovins de race Blonde d'Aquitaine. D. Micol, D. Bauchart, C. Jurie, R. Jailler, B. Picard et J. Agabriel
Les Fibres IIb et les vaisseaux capillaires sont les tissus responsables de l'expression PSE dans les muscles Semi Membranosus et Longissimus Dorsi du porc H.P. Ngo, L. Aldebert, P. Figwer, MM. Ruchoux et M. Franck
Contrôle de la qualité des viandes : mesure de la longueur des sarcomères par acquisition d'image et transformée de Fourier F. Peyrin, D. Cormier et J. Lepetit
Analyse protéomique appliquée à l'identification de la composition en protéines d'une préparation de muscle " crushed-muscle " B. Picard, C. Barboiron, L. Minassian, T. Chaze, I. Cassar-Malek et M. Bonnet
Effet de l'espèce sur l'expression des protéines de liaison cytosolique des acides gras (FABP H et A) dans le muscle Pectoralis major de canard.  G. Saez, G. Gentès, JF. Hocquette et E. Baéza
Potentiel de la spectroscopie de fluorescence pour discriminer differents muscles et pour prédire certains paramètres physico- chimie de la viande A. Sahar, T. Boubellouta, J. Lepetit et E. Dufour

Modéliser l'évolution des activités métaboliques dans le muscle bovin.  N. Schreurs, F. Garcia, B. Picard, J. Agabriel, C. Jurie et D. Micol
Conférences invitées Hygiène et Sécurité
Evolution des risques sanitaires : campylobacter et salmonelles G. Salvat, M. Chemaly, M. Denis, C. Robinault, A. Huneau, S. Le Bouquin, V. Michel et P. Fravalo
Les procédés de biopréservation P. Garry, S. Christieans et P. Cartier
Communications orales Hygiène et Sécurité
Mise en place du dispositif relatif aux Informations sur la Chaîne Alimentaire dans la filière bovine C. Gilain-Galliot et JM. Gautier
Statut de contamination au stade 'Unité de Vente Consommateur' de viandes de biche sauvage pour 3 indicateurs bactériens C. Magras, B. Poignet et M. Laroche
Diversité génétique et capacité à former des biofilms de Staphylococcus equorum, espèce dominante dans les saucissons fermiers I. Lebert, S. Leroy, JP. Chacornac, P. Chavant, T. Bernardi et R. Talon
Ecologie microbienne du Chorizo Français: Incidence des paramètres technologiques sur la sécurité et la salubrité des produits S. Christieans, G. Dorchie, JP. Chacornac et R. Talon
Posters Hygiène et Sécurité
Origine et thermorésistance des Leuconostoc au cours du process du jambon cuit supérieur S. Christieans et M. Rivollier
Evaluation des risques liés à la production d'amines biogènes par des staphylocoques à coagulase négative isolés de fromages et salaisons  S. Christieans, S. Leroy, S. Pochet, E. Beuvier et R. Talon
Sym Previus Des assistants informatiques pour estimer l'exposition du consommateur aux dangers microbiologiques O. Couvert, J.C. Augustin, C. Denis, E. Jamet, A. Pinon, V. Stahl, D. Thuault et V. Zuliani
Quantification de la détection de dangers bactériens contaminant des carcasses de porcs à l'aide d'indicateurs macroscopiques.  J. Fosse, M. Laroche, N. Oudot, A. Rossero et C. Magras
Diversité génotypique de Campylobacter spp et statut de dangerosité des carcasses de porcs : premiers résultats M. Laroche, M.H. Desmonts, M. Lebigre, A. Rossero, B. Minvielle et C. Magras
Traitements assainissants localisés : intérêt du procédé 'steam vacuum' dans la gestion des souillures fécales sur carcasses A. Le Roux, B. Minvielle et T. Lhommau
Traitements thermiques localisés des carcasses et pièces de découpe A. Le Roux, B. Minvielle et A. Vallée
Etude de la croissance et de la survie de souches Escherichia Coli productrices de Shiga-Toxines (STEC)acido-résistantes ou non dans des saucissons secs artificiellement contaminés MP. Montet, D. Thevenot, S. Ganet, M.L. Delignette Muller, S. Miszczycha, C. Vernozy-Rozand, M. Rivollier et S. Christieans 235
Production et utilisation de muscles à longue DLC issus de viandes bovines françaises  L. Picgirard et M. Renerre
Test de croissance de Listeria Monocytogenes sur le jambon sec salé avec ou sans salpêtre N. Robert, S. Basly, G. Gasc, S. Théau-Audin et C. Dutertre

Une expertise au service des entreprises et des pouvoirs publics : RMT 07.01 Expertise pour la détermination microbiologique
de la durée de vie des aliments
V. Stahl et C. Denis
Mise en évidence d'activités anti-Listeria et anti-E. Coli de bactéries lactiques pour la biopréservation de viande
K. Yaakoubi, N. Benkerroum et I. Chevallier



#### L'ALIMENTATION CARNÉE À TRAVERS LES ÂGES ET LES CULTURES

#### **CONTRERAS** Jesús

#### Chaire Le Studium et Université de Barcelone

#### 1. De la biologie à la culture

Avant de considérer le rôle de la culture dans la consommation de viande, il convient de rappeler certains "aspects biologiques". On est d'accord pour affirmer que l'attirance ressentie par la majorité des populations envers les protéines de la viande répond à des déterminants biologiques. Étant donné que les viandes procurent une sensation de satiété forte et durable, à cause de la difficulté d'assimiler les molécules complexes des amino-acides, elles sont préférées aux produits végétaux par toutes les populations qui recherchent la satiété (Lambert, 1997: 242). La physiologie et les processus digestifs de notre espèce nous prédisposent à apprendre à préférer les aliments d'origine animale parce qu'ils sont une meilleure source de protéines, par portion cuisinée, que la majorité des aliments d'origine végétale. L'importance des protéines est dûe au fait que l'organisme les utilise pour favoriser et réguler la croissance des tissus (Harris, 1985: 31). Ainsi, de nombreuses cultures ont concédé et concèdent une grande valeur à la "viande" et assurent que, sans elle, les populations restent "sur leur faim" malgré tous les légumes qu'ils ingèrent.

Or, les conditionnements biologiques ne suffisent pas à expliquer les comportements alimentaires des humains qui ont des déterminants multiples depuis l'origine de l'espèce. L'importance des aspects culturels pour comprendre l'alimentation engage à constater que les facteurs biologiques se concrétisent de manière différente dans des sociétés différentes. Trois observations de contenu distinct nous servent de point de départ: 1) Il existe des préférences et des aversions très différentes d'une culture à une autre par rapport à des mêmes sources de protéines (insectes, grenouilles, escargots, chien, cheval, porc, vache, etc.) qui vont au-delà des conditionnements biologiques et qui renvoient à différentes stratégies d'adaptation au milieu; 2) Dans toutes les cultures connues, les interdits alimentaires sont plus importants en ce qui concernent les produits animaux que végétaux. Les animaux possèdent des attributs morphologiques qui les rapprochent beaucoup plus des êtres humains. Et plus ils s'en rapprochent, plus ils sont l'objet d'interdits et d'aversions (Fischler, 1995; Lambert, 1997; Leach, 1972); et 3) Les ethnologues ont observé fréquemment que la viande est l'aliment le plus convoité. L'évaluation de la viande dans des cultures et des époques distinctes est une constante à tel point que les historiens ont mesuré la prospérité selon l'augmentation de la consommation de viande par personne. De manière générale, quand le revenu a augmenté, la consommation alimentaire de protéines animales a augmenté également (Fischler, 1995: 117-118; Harris, 1985: 23-24).

### 2. La perception de la nature et le continuum animalité-humanité comme origine des préférences et des tabous alimentaires.

Comme le signale Fischler (1995), malgré des raisons nutritionnelles qui expliqueraient le goût pour la viande, l'attitude humaine face à celle-ci a toujours été ambiguë, ambivalente et parfois contradictoire. Tantôt on l'exalte, tantôt on l'interdit; tantôt elle attire, tantôt elle répugne. Tout au long de l'histoire, et de la part de nombreuses cultures, la viande et les produits d'origine animale ont été soumis à des règles de tout type, simplement restrictives, ou même prohibitives. Ces règles ont généralement une inspiration à caractère religieux. Dans l'Ancien Testament, le "paradis" est végétarien. C'est seulement après le Déluge que Dieu donne à l'homme le droit de manger de la viande, à la condition qu'il s'abstienne du sang, qui apparaît comme le souffle vital des êtres vivants et une partie de Dieu. Au Haut Moyen-Âge, l'Église dirige ses interdits alimentaires exclusivement envers les espèces animales. Depuis le Moyen-Âge, les règles de Carême, la division entre les jours "gras" et "maigres" ont pesé avec une rigueur particulière sur l'alimentation des catholiques (à certaines époques, on a compté entre 120 et 180 jours "maigres", c'est-à-dire sans viande, ni graisse animale).

Au-delà des interdits religieux, il existe aussi des aversions individuelles. Ce sont presque toujours des substances d'origine animale qui suscitent le dégoût. Ainsi, dans la liste des rejets les plus fréquents, en France ou en Espagne par exemple, on trouve les abats (la cervelle, le foie...), la "graisse de la viande" et les sous-produits du lait. En réalité, tout se passe (Fischler, 1995: 115-121) comme si toute nourriture d'origine animale était virtuellement susceptible de susciter le dégoût. Non seulement la majorité des cultures appliquent des interdits ou éprouvent de la répulsion face à certaines espèces animales biologiquement comestibles, mais on a l'habitude de compter plus d'espèces repoussées que d'espèces consommées. Les "hommes des bois" du Kalahari, par exemple, identifient 223 espèces animales dans leur environnement. Ils n'en considèrent comestibles que 54, et parmi celles-ci, seules 17 sont chassées régulièrement. En Europe, les interdits énoncés par les pénitentiels du Haut Moyen-Âge concernant les "immondes". Les espèces "immondes" forment de longues listes d'animaux et de circonstances impures. Et les interdits alimentaires judaïques se distinguent en fin de compte en autorisant seulement une petite quantité d'animaux et qui doivent se consommer dans

des conditions très restrictives. La liste des interdits ou des espèces abominables est si longue qu'il convient de se demander si l'interdit n'est pas plus la règle que l'exception. En définitive, l'animalité en elle-même serait donc le facteur virtuellement répulsif.

Les différentes attitudes vis-à-vis de la viande sont clairement déterminées par un code culturel et social qui renvoie aux représentations de l'animal. Ainsi, pour Leach (1972), la comestibilité et la non-comestibilité sont le résultat d'une "dérivation" logique qui part du concept de nature et identifie les animaux comestibles au moyen d'une série de dichotomies conceptuelles. Les tabous alimentaires s'expliquent par la proximité ou l'éloignement de chaque animal par rapport aux êtres humains. Les animaux proches des humains sont interdits, tout comme les plus éloignés. Le tabou de la chair des prédateurs est lié au problème de l'assassinat. Manger de tels animaux implique d'incorporer un désordre et met en danger la distance socio-culturelle entre les humains et la nature. Les tabous sur les non-prédateurs partagent la spécificité du fait que les animaux tabous appartiennent à un monde culturellement défini et en même temps ils le contredisent. Il existe aussi un tabou s'ils sont semblables aux humains sur un certain aspect ou s'ils transgressent la définition culturelle des frontières entre les ordres humain et animal.

#### 3. Différenciation sociale : pouvoir, autorité, genre...

La présence plus ou moins importante de la viande dans la diète n'a pas seulement été inégale d'une culture à une autre, mais également au sein d'une même société. Historiquement, dans des sociétés stratifiées et hiérarchisées, l'accès à la viande a constitué un indicateur de bien-être et même de pouvoir, et, dans cette même mesure, un élément de différenciation sociale. Jusqu'au XIXème siècle et encore durant une bonne partie de celui-ci, l'embonpoint, plutôt considéré comme de la « corpulence », suggérait la santé, la prospérité, l'honorabilité (Fischler, 1979: 208) et, dans de nombreuses sociétés dominées par la sous-alimentation, l'obésité a été sublimée comme signe de richesse.

La viande a été un bien rare dans la majorité des sociétés et durant la majorité des périodes historiques. Dans l'Italie et la Roumanie du XIXème siècle, par exemple, le maïs représentait jusqu'à 90 % en poids de l'ingestion totale d'aliments, une prédominance très proche de l'exclusivité. Les légumes frais ou en conserve participaient faiblement à la diète des paysans européens et représentaient probablement à peine 5 % du poids de la consommation de maïs. La consommation de viande, souvent réservée à certaines festivités, était très faible. Les produits laitiers, souvent réservés aux enfants, étaient rares. La consommation de graisses était rare également, plus souvent utilisées pour donner du goût qu'en tant qu'aliments nutritifs. Les hommes recevaient quelques compléments durant les périodes de travail plus difficile mais pas les femmes, qui furent affectées en plus grande proportion par la pellagre (Warman, 1988: 160-161). Beaucoup de plats modernes comme la pizza et la pâte, le pot-au-feu et le gâteau de berger irlandais, le chop suey et autres doivent leurs origines à des plats paysans traditionnels dans lesquels une grande quantité d'un aliment basique était rendue plus appétissante par l'ajout d'une petite quantité de viande ou de légumes goûteux (Fiddes, 1991: 224).

La consommation de viande comme indicateur de différenciation pénètre aussi au sein des foyers. "Qui gagne le pain, mange la viande": cette aphorisme, dit Segalen (1988, 276), se réfère à de nombreuses pratiques de consommation différentielle dans les familles de classes paysannes et ouvrières et symbolisent la redistribution effectuée dans le foyer. Le "chef de famille" consomme les plus grosses quantités de viande et les meilleurs morceaux. Cette pratique est liée, précisément, à l'image de la viande qui fortifie le travailleur. La femme intériorise cette situation à tel point qu'elle n'a même pas le besoin de se réprimer : elle n'aime pas la viande, elle n'a pas faim et n'a même pas conscience de se sacrifier.

#### 4. Durant des siècles, l'appétit pour la viande et la satiété ...

"Les légumes n'apportent rien de plus que des tracas; la viande nourrit et donne de la joie". Ce refrain exprime, physiologiquement et spirituellement, la perception de la viande d'une part et celle des légumes d'autre part; dans une société comme la société espagnole. Cette perception pourrait s'appliquer à beaucoup d'autres sociétés. Parmi les ouvriers du champ espagnol, durant la première moitié du XXème siècle, la diète était composée de 1400 grammes quotidiens de pain et, en plus, pour le mois, de trois litres d'huile, quatre litres de vinaigre, une mesure de sel et quelques têtes d'ail. Avec ces ingrédients, on préparait les gazpachos, les vinaigrettes ou *sopeados* de ceux qui prenaient trois fois par jour. En tant qu'extraordinaire, ils avaient l'habitude de prendre quelques olives, des oranges, des piments, des tomates, etc.; c'est-à-dire des produits de saison qui s'avéraient bon marché. Seuls les gérants, les contremaîtres, les opérateurs et les gardiens mangeaient de la nourriture chaude; ils préparaient un plat de légumes secs pour la nuit, composé de pois chiches ou de fèves, avec des pommes de terre ou du riz, avec de l'huile pour condiment, et, quelquefois, avec cinquante grammes de lard par individu (Argente del Castillo, 1924: 38). Parmi les ouvriers industriels de la ville de Sabadell de 1910 (Carrasco, 1986: 138), la consommation de protéines animales était rare en général (21,4 kg par an, hormis la viande de porc). Généralement, la viande se consommait en tant qu'accompagnement de plats cuits à l'étouffée ou plats uniques ou comme plat principal lors des occasions extraordinaires, les animaux de

basse-cour étant très appréciés, très chers pour le salaire journalier de l'ouvrier. Les viscères et les abats des animaux étaient utilisés pour faire des bouillons.

Il n'en fut pas de même dans tous les pays, ni à toutes les époques. Nous connaissons des diètes presque exclusivement carnivores, comme celle des Inuits, et l'importance de la viande ingérée dans certaines sociétés et/ou groupes sociaux sans que sa consommation constitue un privilège. Dans le Mexique de 1580 par exemple, la valeur de la viande était un huitième du pain, en 1590, un quart. Au Venezuela, depuis le XVIème siècle, la "viande frite" est devenue le plat national par excellence. Sa popularité a été telle que, à la fin du XIXème siècle, dans presque tout le Venezuela, "frit" est devenu le synonyme d'aliment ou de nourriture quotidienne (Lovera, 1988: 75). Aussi, dans la Vice-royauté du Pérou, la consommation de viande fut fréquente et abondante, six livres hebdomadaires, comme semblent en témoigner certaines des Ordonnances coloniales (dans Roel, 1970: 152).

Dans une bonne mesure, jusque la moitié du XXème siècle, la consommation de viande bénéficiait d'une estime très positive, nutritionnelle et organoleptique. Les rapports des médecins hygiénistes tout au long du XIXème et du premier tiers du XXème siècles, font le constat, de leur point de vue, d'une consommation rare de protéines animales et recommandent de stimuler la consommation de viande parmi les classes travailleuses. En accord avec certains auteurs des débuts de ce siècle, la rareté de la consommation de viande pouvait expliquer aussi le retard socioéconomique d'un pays comme l'Espagne :

"Il y en a qui croit, et pas avec peu d'apparences de certitude, que le retard dans lequel se trouve l'Espagne se doit principalement aux pois chiches et, tout du moins, on a prouvé par une multitude d'observations que les races qui consomment beaucoup de viande sont supérieures en intelligence et énergie physique. Qui en doute, qu'il compare les anglaises et les anglais aux espagnoles et espagnols, et qu'il déclare de manière ingénue qui a contribué le plus au progrès de l'humanité" (Sela, 1910: 246).

#### 5. De l'appétit au rejet? Du "carnivorisme" au végétarisme?

Les années 50 du XXème siècle constituent un certain point d'inflexion par rapport à la consommation de viande et l'évaluation nutritionnelle et culturelle de celle-ci. Dans les pays les plus industrialisés, la consommation de viande commence à être considérée excessive non seulement pour une bonne santé, mais aussi pour un maintien correct de l'environnement. Les viandes rouges, dont l'image symbolise le mieux la vie et la force physique, perdent leur caractère attirant au profit des viandes blanches et des poissons, rejetés auparavant parce qu'ils "ne restaient pas dans le ventre", c'est-à-dire qu'il n'étaient pas suffisamment nourrissants (Lambert, 1997: 242). De la même manière, les signes de l'animalité de la viande se font toujours plus discrets. La consommation des abats diminue constamment. La viande animale prend de plus en plus l'apparence d'une matière "travaillée", transformée, s'éloignant toujours plus de l'animal vivant et de ses formes identifiables (Fischler, 1995: 127-128).

Une donnée, bien que partielle, sert à constater les changements importants qui ont eu lieu ces dernières décennies par rapport à la consommation de viande et l'évaluation de celle-ci. Aux États-Unis, selon la Fondation Foodways, de 1985 à 1992, le nombre de végétariens est passé de 6 à 12,5 millions. Une augmentation de plus de 100 % en seulement 7 ans. En termes généraux, on pourrait dire que le végétarisme (ou l'anti-"carnivorisme") a augmenté considérablement dans les pays industrialisés, tout particulièrement dans les pays anglo-saxons. Nous pouvons nous demander si cette croissance du végétarisme et le déclin du prestige de la viande annoncent un changement des systèmes de valeurs. Aujourd'hui, le déclin de la viande semble être en relation avec un changement de sensibilité par rapport aux réalités telles que la mort, la souffrance, la violence, les déchets, la contamination, enfin les animaux eux-mêmes, que nous reconnaissons de plus en plus comme des "frères inférieurs" (Fiddes, 1992: 227-233). Ainsi, parmi les motivations justifiant l'adoption du végétarisme par une partie des végétariens des Midlands de l'Est de l'Angleterre, se détachent les motivations morales, liées à l'élevage, le transport et l'abattage des animaux, et surtout les rapports avec la santé, le goût et l'écologie. Certaines évidences révèlent l'incorporation progressive du végétarisme à la nourriture conventionnelle comme, par exemple, la prolifération de commerces spécialisés dans la vente de produits alimentaires végétariens; l'apparition sur le marché d'aliments à base de protéines végétales pré-cuisinés; des rayons de produits végétariens dans les supermarchés; et l'inclusion de menus végétariens dans les restaurants conventionnels (Beaddsworth et Keil, 1992 et 1993).

Or, le végétarisme n'est pas une attitude, ni un comportement neufs. Certaines cultures ont été et continuent à être fondamentalement végétariennes soit pour des raisons écologiques comme ce serait le cas des Amharas d'Ethiopie (Farb et Armelagos, 1985: 45-46) ou philosophiques (hindouisme). En tout cas, le développement de l'industrialisation depuis 1870 donne lieu (Eder, 1996) à un large spectre d'activités alternatives et à une augmentation des justifications intellectuelles pour une culture "anti-carnivore". Ces mouvements, appelés de "réforme naturelle" incluent divers groupes et différents activismes et visions du monde: mouvement de la guérison naturelle, mouvement anti-alcool, mouvement végétarien, etc., qui ont renoncé à la consommation de viande et au sacrifice d'animaux pour des raisons éthiques. Le "végétal" est devenu la quintessence d'une alternative à la culture alimentaire dominante. Dès lors, comme la société urbaine a de moins en moins de contact avec l'environnement dont elle dépend (Fiddes, 1992: 227-232), une

minorité de personnes commencent à se préoccuper de l' "abus humain". On crée des réserves naturelles, des sociétés de protection des animaux et des mouvements naturistes et végétariens.

Tout ceci donne lieu à un certain paradoxe de la modernité. Si le mouvement de la science ré-animalise un peu l'homme, celui de la civilisation tend à humaniser l'animal. Nous sommes plus sensibles au fait que les animaux sont aussi des êtres sensibles, capables de plaisir et de douleur. L'animal a de plus en plus une place et un rôle dans la famille et on lui accorde une individualité et une identité croissantes. Si, d'un côté, l'élevage industrialisé chosifie les animaux, d'un autre côté, la civilisation individualiste les humanise (Fischler, 1995: 130-131). En définitive, un changement de sensibilité se produit à tel point que les "droits des animaux" sont devenus un thème philosophique important. De cette façon, aujourd'hui, dans une société industrielle, démocratique, technicisée et rationnelle, des tabous alimentaires se perpétuent, comme dans les sociétés traditionnelles. Aujourd'hui, le système des tabous alimentaires modernes est basé sur l'idée d'un sujet pourvu de droits (Eder, 1996).

Ces conceptions culturelles se sont concrétisées à partir des années 70, à travers des comportements alimentaires particuliers qui déclarent poursuivre un retour à une alimentation « plus naturelle »: la nature est bonne, l'homme est perverti par la civilisation. Des arguments d'ordre économique: l'élevage occupe 24 % des terres cultivées de la planète, il dévore 35 % des céréales mondiales. Quelques pays pauvres utilisent leurs céréales pour alimenter les animaux destinés à l'exportation au lieu d'alimenter ses propres populations. Des arguments d'ordre écologique: les élevages intensifs, en augmentant les déchets biologiques, contribuent au réchauffement de la planète par l'effet de serre. Des arguments d'ordre médical: les viandes, riches en pesticides toxiques, en antibiotiques, en acides gras saturés, sont mauvaises pour la santé. Des arguments moraux: l'abattage des animaux pour la viande est cruel, criminel. Tout cela représente un idéal ascétique, l'éloge du renoncement, le rejet du monde moderne, l'idéalisation du passé et de la nature, ainsi que la culpabilisation (Apfeldorfer, 1994: 46).

De plus, il convient de prendre en compte les conséquences à caractère sociologique de l'industrialisation. Par exemple, la sédentarisation a impliqué une diminution généralisée de la force physique de travail, ce qui a engendré une réduction des dépenses énergétiques des individus et une moindre attirance pour les viandes à effet rassasiant. La sous-alimentation et, par conséquent, la prise de conscience des excès alimentaires, est à l'origine des changements de préférences observés tout au long des années 80 dans les pays les plus industrialisés, et tout particulièrement, dans les fractions de population plus aisée. On assiste ainsi au début d'une inversion de la tendance des jeux de substitutions entre les aliments: maintenant, l'attraction des produits d'origine végétale s'avère plus importante, et en plus, elle se voit renforcée par les discours des nutritionnistes. Les viandes (particulièrement les viandes rouges) s'associent souvent aux graisses, et pour cette même raison, elles sont rejetées en réponse au désir de "diététique" qui se développe surtout parmi les femmes d'âge moyen (Lambert, 1997: 242).

D'autre part, manger de la viande a cessé d'être un privilège des classes aisées. Avec l'augmentation des salaires et la diminution des prix, la viande et les produits de charcuterie sont devenus, ces dernières décennies, un luxe accessible. Leur consommation a augmenté sans arrêt de la fin du XIXème siècle aux années 60 et ceci, au détriment des légumes, des pommes de terre, du pain et des pâtes. En France, la consommation moyenne de viande était de 55 grammes par personne et par jour en 1840; de 192, en 1960 et de 300, en 1991. Cependant, dans les années 80, on note une inversion de la tendance: l'accent est mis sur l'alimentation légère et la consommation de viande est sévèrement critiquée. Ce sont surtout les cadres supérieurs qui ont réduit leur consommation, notamment de boeuf et de veau, tandis que celle de la charcuterie et des volailles augmente (Apfeldorfer, 1994: 174-175).

#### 6. Que s'est-il passé?

Que s'est-il passé pour que d'une estimation positive de la viande, on passe à une diminution et une élimination de ses composants essentiels? "Graisses" et "calories" constituent aujourd'hui une espèce d'ennemis publics. Ils sont ennemis de la "santé" et de la "ligne", à tel point que les produits sans cholestérol représentent la génération la plus récente des produits-santé et sont présentés en relation avec la prévention des maladies cardio-vasculaires. Le fait de se préoccuper de la santé peut donner lieu également à un autre type de modifications des produits de la viande: on peut diminuer certains de ses composants (graisse et cholestérol, par exemple), on peut diminuer la quantité d'un des éléments utilisés pour lui donner de la saveur et le conserver (le sel), et même, on peut lui en ajouter un autre non seulement complètement étrange au produit mais associé à un produit complètement différent, pour ne pas dire "opposé", le bifidus actif associé au yaourt: "Le chorizo sanissimo est uniquement fabriqué avec des viandes maigres de porc sélectionnées, sel et paprika. Dans son élaboration, tout ce qui contribue à améliorer ta santé est important. Par exemple, crois-tu que le bifidus est seulement un composant des yaourts? Il s'avère que le chorizo sanissimo contient du bifidus actif pour améliorer ta flore intestinale. En effet, tu auras une diète plus équilibrée et tu te sentiras mieux. Si tu recherches des aliments contenant moins de graisse, de sel et de cholestérol, ou simplement si tu souhaites avoir un style de vie sain sans renoncer à une meilleure saveur, tu peux déjà goûter tous les produits de la gamme Sanissimo: chorizo, saucisses, pâté de dindon, jambon cuit et blancs de volaille. Le plaisir est Sanissimo (...) Sanissimo. Le plaisir de manger sain".

L'idéalisation d'une bonne santé conduit naturellement le corps médical à maintenir un discours à caractère moralisateur, à énoncer le bien et le mal, le permis et l'interdit, et même avec force de loi. Ainsi, on passe du simple conseil à l'instauration de mesures coercitives qui tentent d'imposer le bon comportement au corps social dans son ensemble (Apfeldorfer, 1994: 51). Le langage utilisé en matière de régime alimentaire a un caractère moralisant. Les modes de communication exploitent amplement cette moralisation des aliments dans leurs campagnes publicitaires [It's the right thing to do! (Quaker Oats, aux États-Unis)]. La valeur morale attribuée à la minceur et au régime se justifie généralement au nom de la santé.

#### 7. Conclusion?

Quelques réactions à la crise de la "vache folle" de 1996 peuvent fournir certaines clés pour évaluer la dimension culturelle qui existe actuellement dans la consommation de viande. Cazes-Valette (1997, 210-211), évoquant les notions d'ethnocentrisme et de xénophobie de Lévi-Strauss, affirmait qu'on pouvait comprendre que certains français, au mépris de toute distance scientifique, se satisfaisaient de la mention VF (Viande Française) pour se tranquilliser face à la menace de la "vache folle". L'ennemi était l'étranger [dans ce cas, l'Angleterre]. En Espagne, peu de mois après le premier éclatement du phénomène des "vaches folles", en décembre 1996, on approuvait une nouvelle Indication Géographique Protégée, celle de la Génisse Galicienne, dont les brochures de propagande disaient ceci: "Veau galicien: la viande avec une carte d'identité. La première viande de bovin avec Contrôle Intégral et Certificat de Garantie. Le Conseil Régulateur du Veau Galicien protègent des bêtes exclusivement nées, élevées et abattues en Galice. Nos races, notre climat qui est propice à d'excellents fourrages et le maniement particulier des animaux par les agriculteurs galiciens font cette viande unique et appréciée dans toute l'Europe. Par la date du 17 décembre 1996 et grâce au Règlement (CE) n° 2400/96, la Commission déclare que le Veau Galicien mérite d'être inscrit au Registre des Indications Géographiques Protégées, et, par conséquent, protégée à l'échelle communautaire en tant que telle. Le Veau Galicien , un produit qui a une histoire".

Il s'agit d'une autre manifestation de l'ethnocentrisme alimentaire. Le produit propre est un produit connu, "il a une histoire" et "des papiers", c'est-à-dire, une "identité", et, dans cette mesure, il est "contrôlé" et il est sans danger. L'industrialisation alimentaire aurait provoqué la perte de "références" mais les consommateurs continuent à avoir besoin d'elles. En manque d'autres références relatives au lieu de production, aux matières premières, aux techniques de manipulation ou à la compréhension précise des informations que les producteurs fournissent en rapport avec tout cela, la "marque" (AOC, IGP, "Label rouge de Qualité", "Agriculture Biologique", "Agriculture Écologique", "marques blanches", etc.) apparaît comme un nouveau et possible "signe d'identité" pour susciter sécurité et confiance. La "marque" permet de sortir de la masse indifférenciée des viandes anonymes les produits sur lesquels une entité s'engage à la transparence sur des critères déterminés parmi lesquels un des plus importants est l'origine ou l'identité des produits. Tout ceci pourrait expliquer, selon Cazes-Valette (1997, 222-223) que ce type de marques enregistrent une baisse moindre de leurs ventes de viandes au motif de la "crise de la vache folle" que celles qui n'en ont pas. En plus de son rôle juridique de protection, la marque marque le produit, elle le signale, l'identifie et constitue un compromis de la part de "son auteur" et garantit une constance, une amélioration de l'offre qui est mise en avant comme différenciée et différenciable des offres des concurrents.

L'industrie alimentaire a augmenté la disponibilité des aliments, elle a permis de passer de la rareté à la surabondance et met constamment en circulation de nouveaux produits dont les caractéristiques consistent, fondamentalement, à altérer leur composition, en "manipulant" les attributs sensoriels qui avaient permis d'identifier les aliments traditionnellement. Toutefois, les consommateurs constatent une certaine incompatibilité entre la technologie alimentaire et le maintien de la saveur propre des aliments. Ils pensent que la technologie est plus au service du producteur, du transporteur, du vendeur qu'au service de ses papilles (Gruhier, 1989). L' "industrie alimentaire" bouleverse la relation de l'homme à son alimentation. On perd le contact avec le cycle de production des aliments. Les animaux et les végétaux consommés sont d'authentiques "mutants". Dans la "cuisine industrielle", ni la composition ni la forme des aliments évoquent un sens précis et familier. Le risque majeur que semble instaurer l'agro-industrie se réfère aux difficultés à "classer" leurs produits, ce qui fournit une affluence d'aliments sans mémoire, sans histoire connue et que le consommateur classe à la limite du comestible.

En définitive, les "aspects culturels" ont donc joué un rôle important, ces dernières années, dans la diminution progressive de l'appétit pour la viande et dans les modifications à la baisse de sa consommation.

#### Bibliographie

APFELDOFER, G. 1994. Traité de l'alimentation et du corps. París, Flammarion.

ARGENTE del CASTILLO, B. 1924. La Reforma Agraria. Madrid, Real Academia de Ciencias Morales y Políticas.

BEADDSWORTH, A. y KEIL, T. 1992. "The Vegetarian option: varieties, conversions, motives and careers", *The Sociological Review*, 40(2): 253-293.

BEADDSWORTH, A. y KEIL, T. 1993. "Contemporary Vegetarianism in the United Kingdom: Challenge and Incorporation". *Appetite*, 20: 229-234.

CARRASCO, S. 1986. Una aproximación a la antropología de la alimentación: Higienismo y alimentación obrera en Sabadell durante el cambio de siglo. Thèse de Licence (mécanografié). Bellaterra, Facultat de Lletres de la Universitat Autònoma de Barcelona.

CAZES-VALETTE, G. 1997. "La vache folle", en *Cultures, nourriture*, pp. 205-233. París, Maison des Cultures du Monde

EDER, K. 1996. The social construction of nature. Londres, Sage Publications.

FARB, P. y ARMELAGOS, G. 1985. Anthropologie des coutumes alimentaires. Paris, Denoël.

FIDDES, N. 1991. Meat: A natural Symbol. London, Routledge.

FISCHLER, C. 1979. "Gastro-nomie et gastro-anomie: sagesse du corps et crise bioculturelle de l'alimentation moderne", *Communications*, 31: 189-210.

FISCHLER, C. 1995. El (H)omnívoro: el gusto, la cocina y el cuerpo. Barcelona, Anagrama.

GRUHIER, F. 1989. "Quand les ingénieurs font la cuisine", Autrement, 108: 120-124.

HARRIS, M. 1985. Good to eat. Riddles of food and culture. Londres, Allen and Unwin

LAMBERT, J.L. 1997. "Les mangeurs face aux nouvelles technologies alimentaires: conséquences pour les industries alimentaires". Colloque *La conservation de demain*. Bordeaux.

LEACH, E. 1972. "Anthropological Aspects of Language: Animal Categories and Verbal Abuse", à MARANDA, P. (Ed.): *Mythology*, pp. 39-67. Harmondsworth, Penguin.

LOVERA, J.R. 1988. Historia de la alimentación en Venezuela. Caracas. Monte Avila.

ROEL, V. 1970. Historia social y económica de la Colonia. Lima, Editorial Gráfica Labor.

SEGALEN, M. 1992. Antropología histórica de la familia. Madrid, Taurus.

SELA, A. 1910. La educación nacional. Madrid, Victoriano Suárez.

WARMAN, A. 1988. La historia de un bastardo: maiz y capitalismo. México, F.C.E.

Conférences invitées Socio-économie des filières viandes et produits carnés

## LES MARCHES INTERNATIONAUX DES MATIERES PREMIERES POUR L'ALIMENTATION ANIMALE : EVOLUTIONS RECENTES ET PERSPECTIVES

## DRONNE Yves, FORSLUND Agneta, LEVERT Fabrice UMR SMART –INRA-Agrocampus Ouest

65 Allée Bobierre CS 61103 - 35011 Rennes cedex

#### Introduction.

Les familles de matières premières utilisées dans le monde pour l'alimentation animale comprennent principalement les céréales, les oléagineux et les plantes sucrières. A côté des utilisations en l'état des produits de ces cultures, de nombreux coproduits issus d'une première transformation de ceux-ci (trituration, meunerie, amidonnerie, éthanolerie de céréales, sucrerie de betterave) sont aussi largement consommés, à commencer par les tourteaux (traditionnellement celui de soja et de plus en plus celui de colza) et dans une moindre proportion les issues de céréales, les mélasses et pulpes de betteraves.

La croissance économique dans de nombreux pays du monde, le développement des consommations de viande par tête et plus particulièrement des monogastriques, forts consommateurs de produits concentrés en protéines et énergie, l'intensification des modes d'élevage de ces animaux, non seulement dans les pays développés mais aussi dans un nombre croissant de pays en développement, joints à une croissance démographique extrêmement importante dans certains zones du monde, notamment en Asie et Amérique du Sud, entraîne des besoins en ingrédients pour l'alimentation animale de plus en plus élevés (notamment céréales et tourteaux).

Dans le même temps, dans ces mêmes zones ainsi que dans divers pays africains et du Moyen-Orient, les croissances démographiques et dans certains cas économiques conduisent, d'une part, à des besoins alimentaires supplémentaires pour ces populations, sous forme de céréales, d'huiles végétales et de sucre, et d'autre part, en particulier en liaison avec l'urbanisation, à certaines modifications dans les modes de consommations avec un recul des utilisations de certains aliments traditionnels (comme les racines et tubercules et les légumes secs).

Entre alimentation humaine et animale, il existe traditionnellement des relations de concurrence et de complémentarité. Au niveau mondial, il y a bien évidemment concurrence partielle au niveau de l'utilisation des surfaces (tenant compte des conditions climatiques et agronomiques locales), même si de nouvelles terres peuvent encore être « gagnées » pour les grandes cultures dans différentes régions du monde. C'est le cas par exemple entre d'une part le blé et le riz, surtout utilisés pour l'alimentation humaine et d'autre part le maïs surtout utilisé pour l'alimentation animale. Par contre, en ce qui concerne les oléagineux, il y a complémentarité entre une production d'huile principalement destinée à l'alimentation humaine et l'obtention d'un tourteau destiné à l'alimentation animale. Il en est de même pour le sucre de betterave, les mélasses et les pulpes.

A cet arbitrage traditionnel des marchés internationaux en terme de débouchés entre alimentation humaine et animale sont venues s'ajouter, surtout depuis le début des années 2000, de nouvelles formes de demande qui concernent les biocarburants, principalement les céréales et plantes sucrières pour le bioéthanol et principalement les huiles végétales pour le biodiesel. Bien que ces activités soient déjà anciennes au Brésil et aux Etats-Unis, elles ont connus dans ces deux pays une forte accélération depuis 1999 qui coïncide avec la forte reprise des cours mondiaux du pétrole et, dans ces pays comme dans différents autres tels que l'Union Européenne (UE), l'Inde, la Chine, etc., avec des politiques incitatives à la transformation en biocarburants d'une part croissante (mais encore limitée) de ressources végétales locales.

Après une longue période pendant laquelle les cours internationaux des grands produits agricoles de base avaient été particulièrement déprimés par une abondance de l'offre, les campagnes 2006/2007 et encore plus 2007/2008 ont marqué un net retournement, avec une envolée des prix de certains produits inédite depuis plus de 30 ans. De nombreux articles ont été récemment publiés dans la littérature médiatique et scientifique visant à identifier « la » ou plus raisonnablement « les » cause(s) responsable(s) de ce phénomène qui a durement touché de nombreuses populations de pays en développement dans la couverture de leurs besoins alimentaires de base, mais qui a affecté aussi fortement les coûts de production et les marges des éleveurs dans la plupart des zones du monde. Parmi ces causes figurent les mauvaises récoltes en 2006 et 2007 dans certains pays du monde, l'accroissement de la demande alimentaire dans les pays du tiers monde en phase de croissance, la flambée des prix du pétrole (qui a conduit à la hausse de demande de maïs et d'huiles végétales pour les biocarburants et aussi à la hausse des prix des intrants tels que les engrais et le fuel pour les diverses cultures), la baisse de parité

du dollar par rapport aux principales monnaies, à commencer par l'Euro, les politiques publiques mises en œuvre dans certains pays (sur l'encouragement aux biocarburants, les restrictions aux exportations de produits de base pour protéger leurs marchés intérieurs), la spéculation sur les marchés à terme, etc..

Dans cette intervention nous ne chercherons pas à aborder tous ces éléments ni à désigner d'abord un responsable unique ou majeur de cette crise, mais dans un premier temps à décrire la structure actuelle du marché mondial des grandes cultures, avec ses trois composantes de demande (humain, animal et non alimentaire), à analyser les évolutions récentes de ces marchés en terme de quantités, de prix et de stocks. Dans un second temps nous examinerons un certain nombre de perspectives concernant l'équilibre de ces marchés, tout d'abord pour la campagne 2008/2009, puis nous fournirons quelques indications pour un horizon à 10 ans.

#### 1. La structure du marché des grandes cultures en 2006/2007.

En 2006/2007, les grandes cultures occupaient dans le monde une superficie d'environ 914 millions d'hectares (Mha) et ont permis la production d'environ 2,6 milliards de tonnes de produits primaires (les tonnages de plantes sucrières étant exprimées en équivalent sucre). Après trituration de la plupart des 438 millions de tonnes (Mt) de graines oléagineuses, on a obtenu dans le monde environ 217 Mt de tourteaux et 117 Mt d'huiles (y compris l'huile de palme), le solde (environ 66 Mt) étant utilisé en direct en alimentation humaine et animale.

#### 1982 438 165 667 222 25 céréales : oléagineux céréales oléagineux plant suc : eq sucre : 914 Total: Total: Produits de trituration HOMME BIOCARBURANTS AMIDONNERIE ANIMAL NON-ALIMENTAIRE céréales : huiles : eq sucre : 731 214 25 34 céréales : tourteaux 1221 96 142 32 6 25 coproduits sucre autres Total autres Total œufs Coproduits 25 321 2.28 0.67 0.08 céréales huiles : sucre : autres : 185 15 22 5 coproduits autres : BIOCARBURANTS 0.11 Total 3.13 Total: 227 POPULATION: 6.6 Milliards

La structure du marché mondial des grandes cultures en 2006/2007

Source: Estimations INRA, Unités: Million de tonnes

L'alimentation humaine constitue de loin le premier débouché avec plus de 1,2 milliard de tonnes, constitué surtout de céréales (exprimées en équivalent graines), mais aussi de sucre et d'huiles végétales. Rapporté à 6,6 milliards d'habitants, ceci représente une consommation moyenne de 227 kg/habitant/an de ces produits.

L'alimentation animale vient au second rang des consommations avec plus d'un milliard de tonnes (surtout des céréales, mais aussi des tourteaux, des coproduits de céréales et des graines oléagineuses en l'état). Rapporté à une production mondiale de 321 Mt de viandes (bovine, porcine, volailles) et d'œufs, ceci correspond à une utilisation moyenne de ces produits d'environ 3,13 kg/kg de produit animal.

Le troisième débouché concerne les biocarburants avec environ 80 Mt, dont surtout des céréales et des plantes sucrières (exprimées en équivalent sucre), mais aussi des huiles végétales. Globalement ce poste représente donc de l'ordre de 3% de la production mondiale, soit en terme de surfaces l'équivalent de 27 Mha. Les autres postes d'utilisation sont l'amidonnerie et les autres usages non alimentaires qui comprennent surtout des huiles pour la savonnerie, les peintures et vernis, la lipochimie, etc. On doit souligner que la production de bioéthanol à partir de céréales et l'amidonnerie ont fourni au secteur de l'alimentation animale 25 Mt de coproduits sous forme de

cgf (corn-gluten-feed) et de ddgs (dried distillers grains and solubles), les coproduits liés au biodiesel (environ 7 Mt) étant inclus dans le total « tourteaux ».

#### 2. Les évolutions récentes des marchés internationaux des céréales et oléagineux.

Alors que la campagne 2004/2005 s'était caractérisée par un niveau élevé des productions mondiales de céréales et oléagineux, en raison notamment de bons rendements, avec des stocks en hausse relative et des prix faibles, la campagne 2005/2006 a marqué un premier début de retournement avec une chute notable des productions de céréales (due en particulier à de plus faibles rendements mondiaux) ; malgré une diminution de plus de 15 Mt des stocks mondiaux de céréales, les prix mondiaux sont resté faibles. En oléagineux, les productions et stocks se sont inscrits en progression et les prix mondiaux en nouvelle baisse.

C'est en fait la campagne 2006/2007 qui marque le début des véritables retournements des marchés internationaux et des flambées de prix. Elle s'est caractérisée par une nouvelle baisse des productions mondiales de céréales (due en particulier à un léger recul des surfaces, à des rendements plus faibles qu'en 2004/2005 et 2005/2006, à un effondrement de la récolte en Australie, et des baisses de productions aux Etats-Unis et dans l'UE). Durant la même période, la consommation mondiale a augmenté beaucoup plus que la production (principalement pour l'alimentation humaine (mais aussi pour les biocarburants aux Etats-Unis) et les stocks mondiaux ont très fortement chuté de plus de 48 Mt. Pour les oléagineux, la production et les stocks mondiaux ont continué à augmenter. En réponse à ces variations de stocks, les prix des céréales ont fortement augmenté tandis que ceux des oléagineux, sous la pression d'un fort accroissement de la demande d'huiles pour l'alimentation humaine et le biodiesel, s'inscrivaient aussi en nette hausse, mais moins forte que les céréales.

En réponse à ces variations de prix, les ensemencements en 2007/2008 se sont massivement tournés vers les céréales au détriment des oléagineux, tout particulièrement aux Etats-Unis. L'obtention d'un très bon rendement moyen dans le monde (malgré la nouvelle sécheresse en Australie et des baisses de production dans l'UE, au Canada,...) a permis une forte croissance de la production mondiale de céréales et une stabilisation des stocks, certes à un niveau très faible, mais a entraîné pour les oléagineux un très fort recul de la production et des stocks. Pour le maïs et les huiles végétales, l'accroissement des demandes pour les biocarburants a continué à faire pression sur les prix, les cours mondiaux ont continué à progresser de façon extrêmement importante, aussi bien pour le blé et le maïs que pour les graines oléagineuses, et encore plus pour les huiles végétales. A ces éléments haussiers liés directement aux déséquilibres physiques des marchés agricoles, sont venues s'ajouter la flambée des prix du pétrole, la baisse du dollar, la montée en puissance de l'intervention des fonds sur les marchés à terme de ces produits et les politiques mises en place par différents pays visant à isoler autant que possible leurs marchés intérieurs des marchés internationaux, afin de limiter les hausses de prix domestiques en imposant des limitations à l'exportation pour certains d'entre eux (comme l'Argentine, l'Ukraine, la Russie) ou des incitations à l'importation pour d'autres (UE, Inde, Indonésie).

#### 3. Perspectives à court et moyen terme

Les dernières prévisions établies par l'USDA font état pour la campagne 2008/2009 d'une nette progression des productions mondiales, du fait à la fois de progressions de surfaces et de rendements, à la fois en céréales (tout particulièrement en blé) et en oléagineux (tout particulièrement en soja). Alors qu'en blé on devrait assister à une nette reconstitution des stocks mondiaux, on aurait une stabilisation en oléagineux et une nouvelle baisse en maïs. Dans ces conditions, compte tenu d'un maintien de la demande mondiale à un niveau élevé, l'USDA prévoit une poursuite modérée de l'augmentation des prix en soja et en blé (ceux de ce dernier produit ont déjà commencé à baisser à la fin de la campagne 2007/2008), mais une poursuite de la hausse pour le maïs, du fait notamment de la poursuite à un rythme très élevé de la demande par l'éthanolerie des USA. Ces prévisions de prix s'inscrivent encore dans des fourchettes assez larges et le niveau final des prix dépendra largement des évolutions à venir des cours du pétrole.

Pour dégager des perspectives à moyen terme il convient de s'abstraire largement des évolutions, en partie conjoncturelles, qui ont marqué ces dernières campagnes pour dégager certaines tendances lourdes qui continueront à avoir un effet majeur à un horizon de 10 ans.

Entre 2006 et 2016, la population mondiale devrait augmenter d'environ 780 millions d'habitants (soit 12%), principalement en Asie du Sud (+260 millions), en Afrique sub saharienne (+190 million) et « seulement » 90 millions en Chine. A structure de consommation constante, pour maintenir les niveaux de consommation par tête de 2006, en 2016 il faudra en plus 140 Mt de céréales, 15 Mt de sucre et 10 Mt d'huiles végétales. Selon les dernières prévisions de la FAO/OCDE, durant ces 10 années, la production mondiale de viandes (bovins, porc et

volailles) et d'œufs augmenterait d'environ 20% pour atteindre plus de 380 Mt. Avec la structure actuelle moyenne mondiale de consommation de produits concentrés en alimentation animale (3,13 Kg/kg de produit animal dont 2,3 kg de céréales et 0,68 de tourteaux) il faudrait un supplément de 148 Mt de céréales et 43 Mt de tourteaux. Pour ces deux seuls postes, alimentation humaine et animale, ceci correspond déjà à un supplément total d'environ 300 Mt de céréales et 55 Mt d'équivalent graine de soja.

A ces deux postes s'ajoutent les besoins prévisionnels en céréales et en huiles pour la production mondiale de biocarburants à l'horizon 2016. La dernière étude du FAPRI prévoit qu'en 2016 on produirait, à partir de céréales, dans les principaux pays du monde (USA, UE, Inde, Chine, à l'exclusion du Brésil qui utilise de la canne à sucre) environ 62 Mt d'éthanol contre 22 Mt en 2006. Pour cela il faudra environ 135 Mt de céréales en plus (essentiellement du maïs aux USA). En biodiesel, selon la même étude on produirait en 2016 16 Mt contre 6 Mt en 2006, soit un besoin supplémentaire en huiles de 10 Mt.

Si l'on cumule tous ces besoins supplémentaires, on arrive (hors sucre) à un total d'environ 435 Mt de céréales, 43 Mt de tourteaux et 20 Mt d'huiles. Globalement la production d'éthanol de céréales pourrait mettre sur le marché un supplément de 50 Mt de DDB et DDGS qui viendront se substituer pour partie à des céréales (pour environ 33 Mt) et pour partie à des tourteaux (environ 17 Mt).

La question est donc de savoir dans quelles conditions de prix cette demande potentielle de céréales et oléagineux pourra éventuellement être satisfaite.

On doit noter qu'au cours des 30 dernières années, les surfaces cultivées dans le monde en céréales et oléagineux ont progressé en moyenne de 2 Mha (soit environ 0,24% de la surface moyenne) par an. Mais tandis qu'en oléagineux on enregistrait une augmentation notable annuelle de plus de 3 Mha, en céréales on a au contraire une légère diminution. Pour les productions, les progressions annuelles moyennes dans le monde sont de 24 Mt pour les céréales et de 8,9 pour les oléagineux, ces progressions étant dans le cas des céréales totalement dues à l'amélioration continue des rendements moyens.

Si l'on prolonge mécaniquement ces tendances de surfaces et de rendements, on pourrait obtenir au cours des 10 prochaines années une production supplémentaire de 240 Mt en céréales et de 89 Mt en oléagineux, avec la condition que les surfaces cultivées dans le monde puissent augmenter de 20 Mha. Alors que pour les oléagineux les besoins prévisionnels pourraient être facilement satisfaits, il n'en est pas de même pour les céréales, qui enregistreraient un « déficit » de 160 Mt.

## BESOINS MONDIAUX SUPPLEMENTAIRES EN 2016 (Estimations en millions de tonnes, et relativement à 2006)

		CEREALES	TOURTEAUX	HUILES
	ALIMENTATION HUMAINE	+ 140		+ 10
	(pour alimenter un supplément	_		
	de 780 millions d'hab)			
BESOINS	ALIMENTATION ANIMALE	+ 148	+ 43	
ANNUELS	(pour produire un supplément	1.0	1.0	
SUPPLEMENTAIRES	de 60 millions de TEC de viande et oeufs)			
EN 2016	BIOETHANOL	+ 135		
	(pour produire + 40 millions de T)	100		
	BIODIESEL			+ 10
	(pour produire + 10 millions de T)			10
	TOTAL	+ 423	+ 43	+ 20
OFFRE	Selon tendances du passé récent	+ 240	+ 89	
SUPPLEMENTAIRE	_		0,	
BILAN en 2016	(après corrections)	- 160	équilibre	

Pour couvrir l'ensemble des besoins estimés, il faudrait donc à la fois une accélération des progressions de surfaces et de rendements, tout particulièrement en céréales. Les possibilités d'accroître les surfaces cultivées dans de nombreuses zones du monde étant limitées par la concurrence avec les usages non agricoles et les forêts, ces terres devraient être largement prélevées sur des prairies et pâturages qui représentent plus de 3,4 Milliards d'hectares dans le monde.

Toutes ces évolutions supposent à la fois une certaine intensification des productions de ruminants pour libérer des surfaces, une poursuite du progrès technique sur les rendements, des disponibilités suffisantes en eau pour

l'irrigation et des possibilités d'utiliser les différents intrants (engrais et phyto sanitaires) de façon importante. On peut imaginer que toutes ces conditions ne seront acquises ni simplement ni facilement.

#### **Conclusions**

Au cours des 30 dernières années, les surfaces mondiales en céréales ont régressé et seule une amélioration plus ou moins régulière des rendements moyens a permis à la production de satisfaire une demande humaine et animale en forte croissance. Depuis une dizaine d'année mais plus particulièrement depuis la fin de la campagne 2004/2005, en raison de divers aléas climatiques, de substitutions partielles entre ensemencements en céréales et oléagineux, et d'une demande supplémentaire principalement aux Etats-Unis pour la production d'éthanol, les récoltes mondiales ont été insuffisantes pour faire face à la croissance de la demande et les stocks mondiaux ont subi une forte contraction. Cette situation s'est naturellement traduite par une hausse des prix internationaux. Ce n'est pas ce mouvement qui a surpris, mais l'ampleur qu'il a prise en 2006/2007 et surtout 2007/2008, dans la mesure où il s'est trouvé associé à de nombreux autres phénomènes macroéconomiques, monétaires, financiers, etc. Selon les dernières prévisions la campagne 2008/2009 devrait permettre une certaine détente sur le blé et une amorce de reconstitution des stocks.

L'équilibre futur de ces marchés de céréales et oléagineux, avec une demande en forte croissance et relativement inélastique, et une offre qui court après la demande, risque d'être très problématique. Même si on retient une hypothèse d'évolution des rendements moyens mondiaux assez optimiste, il faudra malgré tout, pour équilibrer le bilan, une forte augmentation des surfaces consacrées aux grandes cultures (remise en culture de terres abandonnées, retournement de prairies et pâturages). Cela est possible, mais ces terres marginales ont des coûts de production plus élevés, lesquels seront encore renchéris par un prix du pétrole qui devrait se maintenir à un niveau élevé. Tout ceci conduit de nombreux experts à tabler sur un maintien de prix internationaux plus élevés que ce que l'on avait connu à la fin des années 90 et au début des années 2000.

## Communications orales Socio-économie des filières viandes et produits carnés

#### LES IMPACTS DES HAUSSES DE MATIERES PREMIERES ALIMENTAIRES SUR LES PRIX DE DETAIL PAR ESPECE DE VIANDE EN FRANCE

#### **MAINSANT Pascal**

#### INRA ALISS (SAE2), 65 Bd de Brandebourg 94205 Ivry sur seine

#### Introduction : les liens de prix entre matières 1ères et viande, de la production au détail

Ayant débuté en 2006, puis culminé en été 2007, les hausses inédites des prix mondiaux des céréales et oléagineux se sont atténuées en 2008, mais les niveaux restent pour l'heure bien supérieurs aux niveaux antérieurs à 2006. Ces hausses ont entraîné celles des prix de revient des productions de viande, évaluées par les précédentes contributions. L'objectif de cette présentation est d'évaluer, pour chaque espèce de viande, le potentiel de hausse des prix de détail lié à ces hausses de matières premières alimentaires. Il va sans dire que d'autres facteurs de hausses existent par ailleurs (énergie etc.), mais le présent travail se limite à l'impact de ces matières 1ères. La durabilité de ce mouvement inflationniste sera approchée en terme de perspectives dans le contexte mondial.

#### Matériels et méthode : modélisation d'une répercussion inéluctable des hausses de matières 1ères

Dans les systèmes que nous connaissons en UE, les prix à la production de chacune des espèces ne dépendent directement que du rapport offre demande au niveau national. Du fait d'une offre mondiale de viande encore abondante, il s'est trouvé que depuis 2007, ces hausses des prix de revient n'ont pas encore été répercutées, loin s'en faut, sur les prix des viandes à la production, d'où des contractions de marges pour les éleveurs. Cette situation paradoxale, pénurie de céréales et abondance de viande, n'est pas stable, et comme aucun système ne produit durablement à perte, on connaît l'enchaînement : un manque durable de rentabilité des éleveurs provoque tôt ou tard une pénurie d'offre qui fait monter les prix à la production, le délai de ce réajustement n'excédant pas 2 ans. En bref, les hausses de prix de revient dans les élevages devraient se répercuter jusqu'au détail, inéluctablement et prochainement (avant mi 2009), à l'occasion de pénuries attendues.

En résumé des contributions précédentes, concernant le seul impact des matières 1ères alimentaires sur le prix de revient, entre 2006 et le prévisionnel 2008, d'un coté les impacts sur les productions bovines françaises seraient modérés, de l'ordre de + 4 % en moyenne, avec un + 9 % pour le jeunes bovins, de l'autre les impacts sur les productions de porc et de volailles seraient forts, de l'ordre de + 30 % en porcs et en volailles. Pour chaque espèce, l'impact de la valeur absolue d'une hausse du coût de production sur la valeur de la carcasse reconstituée au détail peut être estimée à partir de la part de la valeur à la production dans la valeur au détail. Pour le porc et le bœuf, celle-ci a été évaluée à partir d'une étude INRA (de 2004), qui avait estimé la part de la valeur de l'animal sorti élevage, hors 5<sup>ème</sup> quartier, dans la valeur totale de cet animal reconstitué en sortie GMS (Grandes et Moyennes Surfaces) : 40% en bœuf ou en porc frais, 20 % en charcuterie salaison. Pour les volailles, nous adoptons 30 % à partir d'éléments fournis par l'ITAVI.

Mais on sait aussi que l'inflation des achats ne se répercute en valeur absolue que si la concurrence est parfaite. Or celle-ci n'est pas parfaite, et on connaît dans la distribution alimentaire l'influence des « coefficients multiplicateurs » sur les prix de détail : il s'agit d'un comportement collectif des distributeurs qui tend à préserver leur taux de marge plutôt que la valeur absolue de cette marge. Autrement dit, la valeur absolue de la marge du distributeur tend à augmenter avec l'inflation des achats, laquelle s'exprime pendant des périodes de pénurie qui atténuent la concurrence inter enseigne. La répercussion réelle se situera entre ces deux mécanismes.

De plus, dans la réalité, les divers produits de la découpe de détail ne subissent pas uniformément les hausses, et on a pu observer que, selon la dialectique marketing habituelle, les morceaux nobles concentrent davantage les hausses que les bas morceaux.

#### Résultats : en France, une inflation modérée sur les prix de détail et qui concerne les 3 espèces

Selon notre méthode, l'impact de la valeur absolue des hausses de coût matière 1ères sur les prix de détail serait négligeable en bœuf, (+2 %), significatif en porc frais (+ 13 %) et en volailles (+ 10 %), et faible en charcuterie (+ 6 %). Comme suggéré précédemment, l'impact réel sur les prix de détail sera vraisemblablement plus élevé que ces évaluations basiques, à cause de la concurrence imparfaite qui autorise l'influence des coefficients multiplicateurs, notamment en période de pénurie. En simulant l'influence des coefficients multiplicateurs, on pourrait augmenter les impacts précités de 50 %. Si les hausses des matières 1ères se confirment dans la durée (cf chapitre suivant), les produits issus des monogastriques devraient donc et théoriquement subir des impacts sur leurs prix de détail, de l'ordre de 10 % en charcuterie et de 15 à 20 % en porc frais et en volailles. Cette

évolution serait à l'inverse de la longue période précédente, caractérisée par les progrès de productivité dans les grandes cultures et les élevages de monogastriques, dans un contexte mondial dominé par les excédents.

Concernant l'inflation spécifique de la viande bovine, l'impact matières 1<sup>ères</sup> alimentaires sur les prix de revient serait faible. Mais la survenue d'une inflation plus faible en bœuf qu'en monogastriques reste à notre avis peu probable. En effet, la pénurie mondiale de viande de ruminant est inscrite dans la revalorisation des grandes cultures face aux cultures fourragères (cf JC Guesdon).

Nous retiendrons que l'influence essentielle des hausses des matières 1ères alimentaires serait un mouvement d'inflation sur les viandes, bœuf compris, entre 10 et 20 %. Comme celle des céréales en 2007, cette inflation viande serait mondiale vers 2009. Dans nos pays développés, cet impact modéré serait facile à assumer, contrairement aux impacts observés en 2008 sur le pain ou le riz dans quelques pays du sud. La théorie économique suggère que, dans les pays développés, qui mangent déjà un peu trop de viande, cet effet prix provoquerait un recul modéré de la consommation totale des viandes, mouvement qui se cumulerait avec les réactions anti-viandes déjà présentes. Au contraire, dans les pays du sud, c'est l'effet revenu qui dominait la période récente et stimulait vigoureusement les consommations de viandes de monogastriques, et cette « inflation viande » à venir devrait seulement atténuer ces croissances.

#### Discussion : la durabilité des pénuries mondiales devient la question principale

Pour évaluer la durabilité de la pénurie mondiale de céréales, il est utile d'abord identifier le mécanisme de la hausse de 2007, lequel reste très controversé dans la presse économique. Refusant le bouc émissaire des agro carburants, nous retenons que la cause fondamentale venait de l'épuisement progressif des stocks mondiaux, lequel traduisait une supériorité de la demande sur l'offre qui durait depuis 10 ans déjà (Dronne, 2008 INRA). C'est le dynamisme prolongé de la demande mondiale qui a rendu le tardif retournement de prix de 2007 inévitable. Et quelques facteurs secondaires ont amplifié le mouvement en 2007, tels que la progression plus rapide de la production américaine d'éthanol de maïs, quelques dégâts climatiques et les « subprimes ».

Or cette demande mondiale de céréales venait elle-même de la croissance économique des pays dits « émergents », tirés par la locomotive chinoise. 4 milliards de personnes connaissaient récemment des croissances annuelles comprises entre 5 et 12 %, selon les pays. Initié dans les années 80 par la Chine de Teng Hsiao-Ping, ce mouvement s'était accéléré après la chute du mur de Berlin en 1989, et avait entraîné une croissance inédite de la consommation humaine mondiale de céréales et de viandes issues de céréales.

Un signal de prix attractif est parvenu aux acteurs en 2007. Il va mobiliser un potentiel de croissance immédiate dés 2008, par la réactivité du système céréalier mondial, témoin le + 14 % de céréales espéré en UE et le + 8 % prévu pour la récolte mondiale de blé (CIC). Mais étant donné la rigidité des surfaces et des rendements, nous n'imaginons pas que ces productions mondiales de céréales puissent augmenter longtemps facilement. La probabilité d'une forte volatilité des cours mondiaux fait consensus, les experts s'attendent à une pénurie instable, mais durable, de céréales ou de viandes, entretenue par la demande des pays émergents, celle des agro carburants et par la reconstitution des stocks mondiaux.

#### Conclusion : une inflation mondiale de la viande s'ajoutera à l'inflation alimentaire mondiale actuelle

Cette inflation nouvelle des produits carnés se cumulerait avec l'inflation alimentaire que les consommateurs du monde entier ont découverte en 2008. Dans les pays émergents, elle entame leur pouvoir d'achat et ralentira sans doute leurs croissances, mais leur forte dynamique d'expansion devrait résister et entretenir un certain niveau de pénurie mondiale, tant en céréales qu'en viandes. Une période de prix à la production, instables certes, mais plus élevés que dans le passé, pourrait s'installer durablement.

Existe-t-il un moyen plus efficace pour initier le mouvement de la production alimentaire mondiale vers un doublement en 40 ans, afin de nourrir plus convenablement les 9 milliards d'habitants prévus pour 2050? Contrairement aux analystes qui nient la capacité du marché à se réguler par les signaux de prix, nous concluons que le fort signal de marché de 2007, issu de la demande du sud, pourrait relancer la production mondiale alimentaire, au nord comme au sud. Pour les éleveurs, du nord comme du sud, la restauration de leurs revenus serait bienvenue, favorisant leurs investissements, dont un des enjeux est d'aboutir à une démocratisation de la consommation de viande à un niveau jamais atteint dans l'histoire de l'humanité.

**Bibliographie :** DRONNE Y., INRA SAE2, Les principales évolutions récentes du marché des matières premières à l'échelle internationale, journée AFZ sur les matières premières, Paris, 10 avril 2008 MAINSANT P., INRA ALISS, Evolution quantitative des marchés de la viande à l'échelle mondiale, conférence, colloque INNOVIANDE du 28/02/2008 à Clermont Ferrand

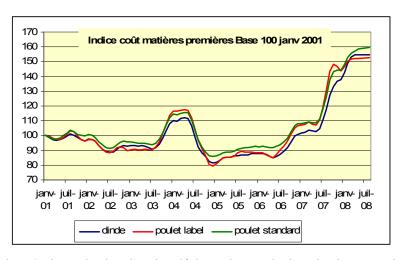
## CONSEQUENCES DU CONTEXTE DE PRIX DES MATIERES PREMIERES SUR LA FILIERE AVICOLE

#### MAGDELAINE Pascale ITAVI 28 rue du Rocher 75008 Paris

#### Introduction

Depuis deux ans, le prix des matières premières utilisées en alimentation animale a fortement progressé entraînant une hausse sans précédent des coûts de production des volailles. Le coût alimentaire représente en effet le poste le plus important dans le prix de revient d'un kg de volaille en élevage (66 % du prix de revient hors main d'œuvre au 1<sup>er</sup> semestre 2008 vs 57 % en 2006). Les impacts de cette hausse, partiellement répercutée en aval des filières, sont multiples tant au sein de la filière que sur le marché mondial.

Impact de la hausse des prix des matières premières sur les prix de revient des volailles et sur la compétitivité de la production française

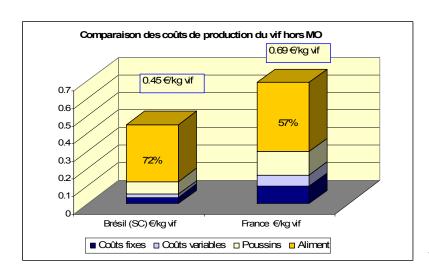


L'ITAVI calcule chaque mois, le coût matières premières d'une formule alimentaire optimisée pour différentes espèces avicoles, à partir d'une trentaine de matières premières disponibles (hors premix et hors coût de fabrication), rendu Centre Bretagne. En deux ans (1<sup>er</sup> semestre 08/1<sup>er</sup> semestre 06), le coût MP d'une formule poulet standard a ainsi augmenté de 69 % (+ 74 % et + 75 % pour des formules poulet label et dinde).

Toutes choses étant égales par ailleurs (autres charges d'élevage et performances techniques constantes),

le coût de production d'un kg vif de poulet standard sortie élevage a ainsi augmenté en deux ans de 33 % soit environ 24 centimes  $\in$  /kg vif. La hausse du coût de production d'un poulet label est plus faible en valeur relative (+28 %), compte tenu d'une part plus importante des charges fixes (amortissement et FF et main-d'œuvre), mais plus importante en valeur absolue (+39 centimes  $\in$ /kg vif). En effet, l'augmentation du coût alimentaire est importante du fait d'un indice de consommation beaucoup plus élevé (3.13 contre 1.87). En dinde, la hausse est de 37 % (+ 36 centimes  $\in$ /kg vif).

L'impact théorique (ou effet propre) de cette hausse du coût du vif sur le prix de vente au consommateur final (en considérant des coûts de transformation et des marges aval constantes en valeur absolue) est d'environ 34 centimes €/ kg PAC pour un poulet standard soit exactement 10 % du Prix de Vente Consommateur moyen 2007. L'impact est légèrement plus important en label (58 centimes € soit 12 % du PVC moyen 2007).



L'impact sur la compétitivité relative entre la production française et ses principaux compétiteurs, notamment les Pays-tiers aurait pu être favorable à la production française, dans la mesure où la part de l'aliment dans le coût de production est plus importante au Brésil (72 % du coût de production hors main- d'œuvre en 2006, contre 57 % en France). Cependant, les hausses des prix des matières premières (maïs et soja) ont globalement été plus faibles au Brésil qu'en Europe. Ainsi, entre janvier 2006 et janvier 2008, le coût de l'aliment volailles a augmenté de seulement 22 % dans le Sud du Brésil, alors que la hausse du coût MP d'une formule poulet en France sur la même période augmentait de 60 % soit une hausse de 48% sur le prix de revient final de l'aliment (on considère 80% de coût MP dans le prix de revient de l'aliment). Par ailleurs, des écarts importants existent entre les différentes zones de production au Brésil, les prix du maïs dans les Etats du Sud exportateurs évoluant en relation avec les prix mondiaux, alors que les Etats du Centre Ouest bénéficient de prix plus faibles et plus indépendants du marché mondial.

#### Adaptation des stratégies des FAB

Dans ce contexte de forte hausse et de forte volatilité des prix des matières premières, les stratégies des fabricants d'aliment français sont modifiées, d'une part concernant le choix des matières premières utilisées, d'autre part concernant les stratégies d'achat et de couverture. Les formules alimentaires deviennent plus complexes, mobilisant un plus grand nombre de matières premières, d'origine plus variées. Ainsi, les fabricants d'aliment ont eu recours, sur les derniers mois, à l'utilisation de manioc, de sorgho, et de maïs d'importation. L'utilisation de nouvelles matières premières, co-produits d'agrocarburants (drèches de blé et de maïs), qui avaient suscité un intérêt initial de la part des FAB, semble pour le moment limitée par des disponibilités faibles et une forte variabilité de leur qualité, alors que les tourteaux de colza ne semblent pas devoir entrer de façon importante dans les formules volailles standard, compte tenu de leur faible concentration en énergie. En revanche, une réintroduction des graisses animales pourrait être observée à court terme, notamment en production de dinde. Des recherches d'économies sont également recherchées par les industriels via une spécialisation des outils (réintroduction des graisses animales, filières non OGM), une amélioration de la logistique et une optimisation de la taille des usines.

#### Adaptations des systèmes de production et impacts filière

Au sein de la filière avicole, les hausses de coût de production ont pu au moins partiellement être répercutées vers l'aval. Différents facteurs ont favorisé cette répercussion : tout d'abord, un contexte de marché favorable, correspondant à la sortie de la crise « influenza aviaire » subie par la filière fin 2005-début 2006 et à une reprise de la demande intérieure et à l'exportation alors que l'offre restait modérée ; ensuite, l'organisation de la filière et l'importance de la contractualisation entre maillons.

Cependant, la hausse des prix de détail qui sera analysée par Pascal Mainsant a amoindri la compétitivité relative de la viande de volaille, notamment par rapport à la viande de porc. Selon les données de TNS Worldpanel, les achats des ménages de viandes de volailles enregistrent ainsi sur le premier semestre 2008 une diminution de 4.2% par rapport au premier semestre 2007, dans un contexte de prix très fermes (+ 11.6 %). Les produits les plus qualitatifs sont les plus touchés : ainsi les achats de poulet entier label rouge reculent de 11.4% (vs une progression de 4.2% pour les poulets entiers standard). Cette tendance est confirmée par les distributeurs qui constatent un développement des ventes de produits 1ers prix aux dépens des produits les plus chers. Sur les produits de découpes, l'impact est encore plus défavorable pour les produits sous label. L'impact à terme de prix élevés des matières premières, et d'un contexte inflationniste des prix alimentaires, alors que le pouvoir d'achat n'augmente pas dans les mêmes proportions, devrait être favorable à la volaille qui bénéficie de bons coefficients de conversion, mais pourrait être globalement défavorable à la consommation de viandes, et à la consommation des produits les plus haut de gamme.

#### Conclusion

Même si une légère décrue des prix des principales matières utilisées dans l'alimentation des volailles semble s'amorcer en cette fin d'été 2008, les prix semblent devoir rester durablement à des niveaux élevés. L'impact de ce contexte sur la compétitivité relative entre régions du monde demeure incertain et fortement lié pour le court terme aux disponibilités sur les différents marchés au niveau mondial. Cette évolution se conjuguera éventuellement avec une ouverture accrue du marché communautaire aux produits carnés en provenance de Pays tiers, même si l'absence d'un accord à l'OMC en juillet 2008 repousse un peu cette échéance. La menace d'une baisse de la consommation de viandes et de volailles est peut être l'élément le plus négatif pour le secteur. Elle est favorisée par un contexte globalement inflationniste (énergie) entraînant une baisse du pouvoir d'achat des ménages. Ce contexte de prix élevés des productions végétales aura également un effet sur les choix de production des aviculteurs non spécialisés (70% des aviculteurs français) qui pourraient se détourner des productions animales au profit des productions végétales quand ils disposent du foncier suffisant.

#### Bibliographie

ITAVI Performances techniques et coûts de production. Décembre 2007 ; indices coûts matières mensuels. Magdelaine P. Conséquences de l'évolution de la conjoncture matières sur les filières avicole. AFZ Avril 2008.

#### Hausse des prix de l'aliment pour les porcs en 2007 Conséquences pour les couts, la rentabilité, la compétitivité des produits

#### RIEU M.

#### Pôle Économie, IFIP – Institut du Porc 34 Boulevard de la Gare, 31 500 Toulouse

#### Introduction

La hausse des marchés des produits végétaux, en Europe et dans le monde, à partir de l'été 2006 et surtout après l'été 2007, a été rapidement et intégralement répercutée sur le prix des aliments pour les animaux. En production porcine, l'alimentation représentant environ les 2/3 du coût de production, celui-ci a augmenté dans la foulée. Mais pour les producteurs de porcs, le prix est déterminé de manière libérale par le marché, c'est-à-dire par l'offre et la demande de viande de porc. Or celles-ci ne dépendent pas instantanément du coût. Le prix du porc a alors peu varié et la production porcine est entrée en crise, partout dans le monde, à l'automne 2007. Les effets de cette crise se font sentir. A partir du printemps 2008, le cheptel de reproducteurs était en baisse dans de nombreux pays de l'UE. Les cours du porc ont commencé à remonter. Les baisses de production vont se précipiter à partir de la fin de 2008 et en 2009. La pénurie va alors faire flamber les cours. Mais que deviendront alors la demande européenne et mondiale ? Cela dépendra du prix des autres viandes et de celui du porc en dehors de l'UE.

#### Matériel et méthodes

L'IFIP-Institut du Porc collecte les résultats techniques et économiques d'un grand nombre d'élevages grâce au dispositif de Gestion Technico-économique (GTE). Celui-ci fournit des informations sur les prix, les performances et les coûts de production.

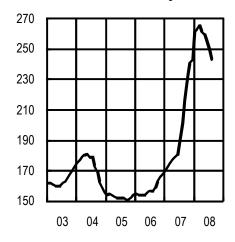
L'IFIP calcule chaque mois « le prix d'aliment IFIP », basé sur le prix de l'aliment pour porcs charcutiers constaté en GTE. Dans l'attente d'un traitement des résultats de GTE une fois par semestre, « le prix d'aliment IFIP » tient compte des prix constatés des matières premières (céréales, tourteaux...), répercutés avec un certain lissage. Plusieurs fois par an, des prévisions sont réalisées.

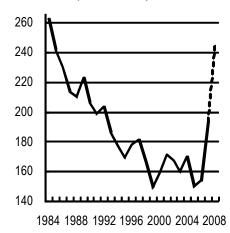
L'IFIP calcule un coût de revient mensuel du porc en France, basé sur les résultats constatés en GTE-Tableau de Bord. Partant de la part des différentes charges dans le coût annuel constaté, la charge en aliment évolue en fonction du prix de l'aliment des derniers mois. Un coût prévisionnel tient compte de la prévision du prix d'aliment.

L'IFIP recueille et diffuse sur son site internet des indicateurs mensuels de coût de revient du porc dans différents pays.

#### Résultats et discussions

#### **Evolution du prix de l'aliment « porc charcutier » (euros/tonne)**





Source: IFIP, d'après GTE, prix payé par les éleveurs. Simulations pour 2008

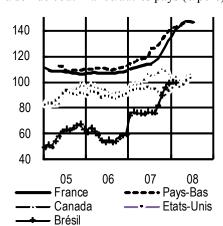
Amorcée à la mi-2006, la hausse du prix de l'aliment pour les porcs s'est accélérée après l'été 2007, pour s'interrompre en 2008, à un niveau très élevé. Au premier semestre 2008, le prix d'aliment IFIP est supérieur de

68% à sa valeur du premier semestre 2006. Selon les prévisions, en 2008, ce prix retrouvera brutalement le niveau du milieu des années 80, après une baisse assez régulière de 1/3 en 20 ans.

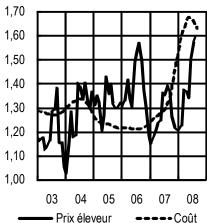
Du premier semestre 2006 au premier semestre 2008, la charge en aliment du coût de revient du porc a augmenté de 57% et sa part dans le total est passée de 57% à 67%. Le coût de revient total du kilo de porc a lui subi une hausse de 33%.

#### Coût de revient du porc charcutier : effet de la conjoncture

Comparaison de coût France/autres pays (€/porc)



Comparaison coût et prix en France (€/kg)



Source: IFIP d'après OMAFRA, Department of Economics Iowa State University, LEI Wageningen, CONAB et EMBRAPA

La hausse des coûts a frappé tous les pays européens et tous les systèmes de production. Suivant les conditions d'approvisionnement en aliment et le taux de couverture au moment des hausses, les effets ont cependant pu être plus ou moins aigus ou décalés dans le temps.

Par rapport au reste du monde, des différences se sont révélées, amplifiées ou masquées par l'évolution des monnaies. Ainsi les coûts ont moins varié en Amérique du Nord, grâce à la hausse modérée du prix du maïs, malgré une flambée passagère due aux inondations en Iowa en été 2008, et, traduits en euros, en raison de la force de la monnaie européenne. Le Brésil par contre, sollicité pour exporter du maïs en Europe, a vu son coût de production du porc augmenter fortement dans la seconde moitié de 2007.

En Europe, même si le prix du porc s'est rétabli au premier semestre 2008, il est toujours resté en deçà du coût de production, épuisant les disponibilités financières des éleveurs, malgré de multiples soutiens et aménagements (aides à la trésorerie, crédit des banques et des fournisseurs...).

Mais selon les mécanismes libéraux à l'œuvre sur le marché du porc, la crise va conduire à la baisse de la production. Au printemps 2008, le nombre des truies était en baisse, de 20% en un an en Pologne et en République tchèque, de 10% au Danemark, en Espagne et en Hongrie. La France semble mieux résister avec un recul limité à 3%. Ces données annoncent une amplification de la baisse de la production européenne dans la première moitié de 2009 et une sensible augmentation du prix de la viande de porc, à la production et sur les marchés des viandes non transformées ou faiblement transformées.

#### Conclusion: vers quels nouveaux équilibres?

Si le coût de l'aliment reste élevé, le prix du porc à la production devra s'ajuster durablement.

Sachant que la matière première pèse en général de 20 à 40% dans la valeur du produit fini, frais ou transformé, quelles seront les répercussions sur les prix de détail ? Et la consommation se maintiendra-t-elle alors ?

Cela dépendra d'abord des hausses des autres viandes et des autres produits alimentaires, ensuite de la concurrence provenant des pays tiers, favorisée par la faiblesse du dollar, mais dépendant de leurs propres coûts de production.

Et si la consommation européenne fléchit, quels seront les bassins de production les plus résistants ?

Pour la filière porcine, cette crise atypique et violente sera un révélateur, de la capacité de résistance et de mobilisation, de l'efficacité de ses arbitrages et de la régulation dans le temps et en son sein. Les mécanismes à l'œuvre depuis des décennies sont-ils toujours adaptés ?

#### Références bibliographiques

Aubry A, 2008. Les résultats des élevages de porcs français en 2007. TechniPorc, Vol. 31, N°3, 2008, pp. 3-11. IFIP Editions Paris

Graveleau Claire, 2008. Compétitivité des élevages porcins à l'étranger : l'IFIP met en place un observatoire. TechniPorc, Vol. 31, N°3, 2008, pp. 25-29. IFIP Editions Paris

## L'IMPACT DES HAUSSES DE PRIX DES MATIERES PREMIERES SUR LA FILIERE VIANDE BOVINE

Quelques résultats et réflexions un an après l'envolée de l'automne 2007

## **GUESDON Jean Claude**

## GEB (groupe économie du bétail) Institut de l'Elevage, 149 rue de Bercy 75595 Paris cedex 12

#### Introduction

Le prix des charges, et par conséquent le coût de production de la viande bovine et du lait, connaît ces derniers mois une progression inégalée. L'effondrement consécutif du revenu dans ces systèmes de production où la simplification du travail est souvent recherchée constitue-t-il une menace pour l'avenir de la filière viande bovine, pour l'équilibre des marchés et pour les enjeux territoriaux et environnementaux liés à cette activité d'élevage ?

## Matériel et méthodes : L'observatoire de l'évolution des charges

Depuis plusieurs années pour la production laitière bovine et plus récemment pour l'ensemble des productions de lait et de viandes bovine, ovine et caprine, l'Institut de l'Elevage calcule un indice d'évolution du prix des charges (IPAMPA) propre à chaque production.

Ces indices sont calculés à partir des indices élémentaires d'évolution des prix, publiés mensuellement par l'INSEE. La spécificité de ces IPAMPA calculés par production repose sur la pondération résultant de la structure des charges propre à chaque orientation technico-économique. Cette pondération des charges est tirée du RICA et de l'observatoire des réseaux d'élevage, pour la pondération du poste « aliments achetés » et pour les systèmes plus spécifiques tels que l'engraissement des jeunes bovins.

## Résultats : En un an une hausse sans précédent des prix des intrants dont l'aliment du bétail

Avec les résultats du dernier mois connu (juin 2008) et en variation annuelle (12 derniers mois connus sur 12 mois précédents), l'indice général IPAMPA viande bovine a augmenté de 9,7%. La variation juin 2008/juin 2007 est de 15,7% et nos estimations sur l'évolution des charges au titre du 2<sup>ème</sup> semestre 2008 nous conduisent à prévoir à ce jour une hausse de 12,5% pour l'année 2008 comparée à l'année 2007.

Cette flambée de l'indice général des prix est particulièrement imputable aux prix des aliments du bétail, mais aussi de l'énergie et des engrais qui ont en un an (juin/juin), augmenté respectivement de 29,2%, 42,4% et 49,6%, alors que, dans les systèmes naisseurs, l'aliment acheté pèse 17% dans la structure du coût, et les engrais et les carburants 8% chacun.

La hausse est encore un peu plus forte dans l'activité d'engraissement. Compte tenu du poids renforcé des aliments achetés dans la structure de coût (36%), la progression de l'indice général sur 12 mois est de 11,4 %. Sur un an (juin/juin) la hausse est de 16,3% et l'indice prévisionnel annuel, que nous établissons à partir d'une estimation au 2<sup>ème</sup> semestre, serait de 12,6%. De telles hausses sont incomparablement plus fortes que celles enregistrées en 2007, (4% sur 2006 pour un naisseur et 5,8% pour un engraisseur) ou a fortiori aux hausses observées depuis 2000, qui variaient de 1% à 3,5% l'an.

En % Juin 2008	Indice IPAMPA « Viande bovine » (2)				ande bovine » (2) Indice IPAMPA « Engraisseurs jeunes bovins » (			s bovins » (3)
	Pondération 100	Variation sur 1 an	Evolution 12 derniers mois	Prévisions 2008/2007	Pondération 100	Variation sur 1 an	Evolution 12 derniers mois	Prévisions 2008/2007
Indice Général IPAMPA-Viande	100	15,7	9,7	12,5	100	16,3	11,4	12,6
Consommations courantes	71	20,4	13,1	16,2	83	18,8	13,0	14,5
dt Aliments achetés	17	29,2	23,2	19,9	36	29,3	22,6	21,2
Investissements	29	4,0	3,2	3,6%	17	4,0	3,3	3,7%

Source : Institut de l'Elevage d'après INSEE

- (1) IPAMPA: indice des prix d'achat des matières premières agricoles
- (2) Indice calculé sur la structure de coût des naisseurs et naisseurs-engraisseurs
- (3) Indice calculé sur la structure de coût des engraisseurs de jeunes bovins à partir de broutards achetés

#### ...Et un revenu en chute libre

La production bovine, en particulier l'activité d'engraissement est d'autant plus « plombée » par cette évolution du prix des charges qu'elle n'a pas, sur la période, bénéficié de hausse de prix de ses produits. Le PMP (prix moyen pondéré) de la viande bovine sur la même période (1<sup>er</sup> juillet 2007/2008-1<sup>er</sup> juillet 2006/2007) n'a connu qu'une augmentation de 1% et celui du jeune bovin R a été tout juste reconduit.

Le soutien public étant lui-même stabilisé sur cette période, le revenu de l'activité d'élevage, naisseur ou engraisseur, a plongé : les derniers résultats connus de 2007 comparés à ceux de 2006 font état d'un recul de 24% du revenu par UTA (source RICA 2007).

## Discussions: Les impacts à en attendre

En cet été 2008, il y a un décalage évident entre des observations partielles, des déclarations d'intentions d'éleveurs, un sentiment partagé par la filière, et la quantification possible d'un éventuel repli de la production bovine

Le décalage entre une certaine « perception » de la réalité et sa mesure objective en termes de données statistiques semble particulièrement fort! La réalité statistique selon les données BDNI est en effet que le cheptel présent en France est en croissance par rapport à il y a un an. Par ailleurs aucune statistique n'existe pour accréditer les observations de terrain qui font état d'un recul des surfaces en herbe.

Les surplus d'animaux présents en ce milieu d'année 2008 correspondent à la fois aux contraintes sanitaires et commerciales liées à la gestion du problème sanitaire FCO (fermeture de la frontière italienne pour les animaux d'élevage fin 2007/début 2008) et à la politique de relance laitière lancée à l'automne 2007. En allaitant, la capitalisation actuellement constatée correspond plus à une relance subie qu'à une relance programmée et ses effets ne perdureront pas, en particulier si les rapports de prix, de coût et de revenu restent ce qu'ils sont entre les orientations culture et élevage.

Effectivement les marges laissées ces deux dernières années aux producteurs de grandes cultures par l'évolution du prix des céréales, amplifient de manière colossale l'écart de revenu à l'UTA ou à l'hectare. Un écart d'une telle ampleur ne peut qu'encourager le passage à la culture de vente de surfaces labourables détenues par des éleveurs de bovins. Dans bien des cas la valorisation d'une transformation des cultures en lait ou en viande ne pourra jamais atteindre la valorisation possible de céréales vendues à la récolte.

Parallèlement un certain nombre d'éleveurs, notamment en systèmes allaitants, se trouvent confrontés à des contraintes pédo-climatiques ou de structures telles que le passage aux cultures de vente n'est pas une alternative. Pour ceux-là l'élevage reste une contrainte et la chute de revenu sera terrible.

## **Conclusions**

En clair le nouveau contexte est mauvais pour l'avenir de la filière bovine. C'est en particulier le cas pour la filière engraissement de jeunes bovins, ce qui par ricochet, par un prix dégradé des broutards, impactera les systèmes naisseurs qui eux, bien souvent, n'ont pas d'alternative technique. Aux difficultés de survie des systèmes allaitants à fortes contraintes herbagères, pourraient se combiner des opportunités de conversion aux cultures de vente des exploitations de polyculture élevage en zone de plaine labourable.

Les filières viande bovine française et européenne, déjà déficitaires, pourraient ainsi se trouver entraînées dans un déclin par l'abandon simultané d'éleveurs spécialisés comme par celui des polyculteurs-éleveurs. La concurrence « interne » entre culture et élevage pourrait encore être amplifiée par le signal très négatif à moyen et long terme d'un éventuel accord OMC (ou d'un accord bilatéral) sur les bases des concessions agricoles faites à Genève en cet été 2008. La Commission y verra une adaptation salutaire aux signaux du marché et une justification à sa politique intérieure et extérieure! La filière viande bovine et ceux qui trouvaient quelques vertus à la survie des régions d'élevage des productions et des surfaces herbagères, y verront tout autre chose!

## Bibliographie

- « **Tendances lait et viande** » publication mensuelle GEB/Institut de l'Elevage dans laquelle sont publiés mensuellement les différents IPAMPA lait et viande calculés par l'Institut de l'Elevage.
- INSEE/SCEES/RICA pour l'évolution des prix des facteurs de production et pour la structure des charges : Traitement Institut de l'Elevage.

## Posters

Socio-économie des filières viandes et produits carnés

## LE SAVOIR-FAIRE DES BOUCHERS ET CHEVILLARDS EN MATIERE DE CHOIX DES ANIMAUX ET DES CARCASSES

#### **DELAVIGNE A.-E.**

## Laboratoire « Eco-anthropologie » UMR 5145- CNRS / MNHN Ilôt Poliveau - 57 rue Cuvier - 75231 Paris cedex 05 - <u>delavigne@mnhn.fr</u>

#### Introduction

En 2006-2007, l'ENESAD a commandité une étude ethnologique sur les savoir-faire en matière de choix des animaux et des carcasses des professionnels de la filière viande en Bourgogne. Elle a été réalisée dans le cadre d'une collaboration avec le service qualité viande de la chambre d'agriculture de Mâcon, l'INRA-Theix de Clermont-Ferrand et le CNRS « Ressources des terroirs - cultures, usages, sociétés » mais aussi la cheville « Charollais viandes » de Paray-le-Monial. Il s'agissait de tenter de formaliser la notion de « grain de la viande », cette recherche devant servir à l'élaboration d'une grille d'appréciation de la « qualité » des viandes à partir des critères utilisés par les professionnels sur les animaux vivants, les carcasses et les viandes à la découpe.

#### Matériel et méthodes

Pour appréhender ces savoir-faire, la méthode ethnologique est susceptible d'apporter des matériaux de première main de sorte à dresser un état des lieux de la question dans toute sa complexité. L'essentiel de la collecte de données est basé sur des entretiens longs (de deux heures à une demi-journée), non directifs et répétés, si possible en situation (dans les boucheries et les abattoirs) et qui restent anonymes. L'enquête ethnologique a porté sur la définition de la qualité recherchée par les différentes personnes rencontrées ayant à faire à la fois à l'animal en vif et en carcasse (des producteurs, des négociants en bestiaux, des chevillards et des bouchers).

Quatre terrains successifs ont été réalisés, en mars, avril puis en juillet et enfin en septembre 2006. Ils ont eu lieu principalement en Saône-et-Loire mais aussi en Allier et dans la Nièvre autour du marché au cadran de Moulin Engilbert. Par ailleurs, des entretiens complémentaires, à des fins comparatives, ont été effectués auprès de professionnels « hors zone », en Anjou. Au total, une cinquantaine de professionnels ont été interviewés, pour certains à plusieurs reprises, dont : une trentaine de bouchers, achetant ou ayant acheté sur pied ; six chevillards et un transformateur ; trois responsables de groupement ou techniciens et enfin une dizaine de producteurs : éleveurs-engraisseurs notamment, membres ou non de coopératives et groupements, deux emboucheurs, un sélectionneur.

A partir des entretiens décryptés, la catégorisation permet la mise au jour des principaux critères d'évaluation de la qualité des carcasses et des viandes et notamment de la notion de « grain de la viande », une des expressions de ces savoir-faire. En sus, les matériaux fournis avec l'analyse (par exemple des extraits de discours, l'attention au vocabulaire usité) rendent compte des situations concrètes d'usage de la notion.

## Résultats et discussions

La notion de grain de la viande a été explorée à partir de l'usage qu'en font les professionnels rencontrés, essentiellement des bouchers, chevillards ou abatteurs du fait de l'ancrage dans le monde de la viande de cette notion. L'aptitude à apprécier le grain de la viande est empirique. Elle s'acquiert avec l'expérience et dans la durée. Comme tout savoir-faire, il fait partie de la culture acquise et partagée au sein d'un groupe professionnel, lors d'occasions de rencontre entre pairs. Son usage dépend également de l'organisation du marché de la viande ; les bouchers ayant de moins en moins affaire à l'animal vivant ou à la carcasse, et isolé dans leur boucherie, ont de moins en moins besoin d'utiliser cette notion.

Les appréciations de la qualité, de la tendreté, du goût d'une viande vont varier d'une région à l'autre, d'un boucher à l'autre, d'une clientèle à l'autre, d'un mangeur à l'autre, ce qui fait aussi du « grain de viande » une notion toute relative. Nous avons cependant repéré une grande convergence des critères cités et un relatif consensus au sein de la profession autour de ce terme. C'est une notion positive. Les professionnels s'en servent pour qualifier la bonne bête, la bonne viande, le bon morceau. Le grain de viande n'est qu'un critère parmi un ensemble de critères convoqués pour aider à choisir une bête ou une carcasse en fonction de besoins définis plus largement et pragmatiques (habitudes et portefeuille de la clientèle etc.).

Pour apprécier la qualité d'une bête et d'une carcasse, des opérations complexes sont mises en œuvre par les différents professionnels amenés à intervenir dans la production de viande. Lorsqu'ils choisissent un animal, pour mettre « toutes les chances de leur côté », les personnes rencontrées s'assurent d'abord de sa qualité en prêtant attention aux caractéristiques « externes » de l'animal (la race, le sexe, l'âge et le fait ou non d'avoir vêlé etc.) et en s'attachant à connaître les façons de faire du producteur. Pour reconnaître le grain de viande sur pied, lors de l'achat en vif, les professionnels ont leurs « repères pour la viande ». Ils recherchent la finesse (des cornes, du cuir, du squelette). Leurs choix les portent le plus souvent sur une bête jeune, une femelle, dite de très bonne conformation. Pour éprouver cette

finesse, avoir une vue d'ensemble de l'animal est nécessaire ainsi qu'effectuer des manipulations, bien connues (sous la queue, sur la culotte ou sur la cuisse), qui visent à estimer l'élasticité du cuir.

Tableau 1. Exemple de descriptifs par antinomie de la finesse du squelette

Une bête grossière osseuse de gros os carrée pas jolie	une sardine qui a le dos pointu une vache qui a dix ans	des grosses	osseuse les jarrets droits pas tendre	Pas de forme le cul pointu des jarrets comme ça	l'os gros bête plus grosse plus osseuse cuir plus épais moins de chance d'être tendre grain moins fin
Une bête fine des muscles bien saillants un cuir très fin au toucher		des petits jarrets	pas osseuse	de la forme bêtes bien épaisses la peau fine pas d'os	grain fin os fins

Pour juger de la carcasse et reconnaître le grain de viande sur la carcasse ou lors de la découpe de détail, les professionnels combinent une association du toucher (directement ou par l'intermédiaire d'un couteau voire même au palais), de la vue, de l'ouïe (lors de la découpe en gros et/ou en détail). Prêtent attention au « relief », ils confrontent plusieurs sortent de toucher (plat de la main, bout du doigt, du pouce ....); de même pour interpréter la compression et la densité des tissus (en pinçant, en enfonçant, en faisant rentrer le doigts, en éprouvant la résistance du couteau à la découpe, etc.). Chacune de ces actions est apte à éprouver une dimension de la qualité recherchée (l'humide / le sec, le fin / le granuleux, le lisse / le granuleux, la résistance...). Ils recherchent ces qualités à divers stades du travail de la carcasse (la carcasse entière, en demi, en quartier ou le morceau au détail) et sur divers morceaux; aucun ne se base sur un seul morceau ou un seul muscle pour son évaluation.

Tableau 2. Ce que l'œil doit percevoir

Morceau concerné	Sens sollicité	Indices positifs	Indices négatifs
Une pièce de viande	vous voyez	les petites cellules de la viande, il faut que ce soit très très très fin, vous ne le remarquez même pas	
A la coupe	Vous avez l'impression Vous (ne) voyez (pas)	Dans les culards, c'est lisse, c'est uniforme, c'est glacé	Dans les bœufs, les fibres d'un gros maillage
Dans un pot-au-feu	On prend par rapport à ça pour savoir la finesse d'une viande	ça fait des carreaux de viande.	

La notion de grain de viande se pense / se dit par son contraire. Pour bien faire comprendre la façon dont ils s'y prennent pour reconnaître la qualité du grain de viande, ces professionnels présentent par antinomie les indices qu'ils utilisent. C'est pourquoi, pour mettre en évidence ce qui se joue en terme de finesse du grain, il semble possible de jouer sur les contrastes, de considérer les extrêmes, de « creuser les écarts » entre deux catégories d'animaux, deux catégories de carcasse.

## Conclusion

L'ensemble de ces observations donne une indication de la qualité de la viande, de sa finesse, et de sa tendreté surtout, valorisée par le marché, et, par contre-coup, une indication de la valorisation possible de la carcasse (c'est-à-dire pour les chevillards où la placer et pour les bouchers, comment la travailler).

Si le sens de la notion de « grain de viande » se dessine dans des relations interpersonnelles, conjoncturelles et situées géographiquement, historiquement, socialement, le grain de viande renvoie aussi, selon une expression d'une des personnes renocntrée, à « la complexité de la bête ». S'intéresser au grain de viande, c'est donc aussi s'intéresser à un savoir-faire qui marque une excellence et à l'élite de ces professionnels de la transformation de l'animal en viande.

Conférences invitées Technologie et Valeur Nutritionnelle des Produits Carnés

# PROPRIETES NUTRITIONNELLES DES PEPTIDES ET PROTEINES DE LA VIANDE : IMPACT DES PROCEDES DE TRANSFORMATION.

RĒMOND D.<sup>1</sup>, SAVARY-AUZELOUX I.<sup>2</sup>, GATELLIER P.<sup>3</sup>, SANTĒ-LHOUTELLIER V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>UMR 1019-Unité de Nutrition Humaine, <sup>2</sup>UR1213-Unité de Recherches sur les Herbivores, UR 370
Qualité des Produits Animaux,

INRA de Clermont-Fd/Theix, 63122 St Genès-Champanelle, France

#### Introduction

Pendant de nombreuses années, l'effort de recherche sur la qualité des viandes a principalement porté sur les dimensions sensorielles et technologiques de la qualité avec un accent particulier sur les déterminants biologiques, notamment avec le développement récent des outils de génomique fonctionnelle (Hocquette 2005). Depuis les crises subies par les filières bovines, porcines et avicoles, le consommateur exige un produit d'une qualité sanitaire irréprochable. De plus, la plupart des consommateurs sont aujourd'hui conscients des liens qui existent entre la qualité de leur alimentation et leur état de santé. Ainsi, en plus des aspects sanitaires et sensoriels, la qualité nutritionnelle devient un facteur important dans le choix des aliments, d'autant plus que les habitudes alimentaires évoluent vers des produits de plus en plus élaborés. En relation avec des objectifs de santé publique, la qualité de la fraction lipidique a fait l'objet de nombreuses recherches (Scollan 2005). Ces études ne doivent cependant pas faire oublier que la viande est avant tout une source importante de protéines pour l'homme. Les récentes avancées dans le domaine de la nutrition protéique ont fait émerger de nouveaux critères d'évaluation de la qualité des protéines alimentaires, à l'origine d'un regain d'intérêt pour les produits carnés. La viande est un aliment complexe qui subit de nombreuses transformations avant d'être consommé (maturation, conservation, hachage, cuisson, ..), procédés technologiques susceptibles de modifier la composition biochimique et la structure des protéines, et donc de modifier leur qualité nutritionnelle.

## I. Propriétés nutritionnelles des protides des produits carnés

Les critères classiques d'évaluation de la qualité d'une source protéique reposent sur la composition en acides aminés de l'aliment et la digestibilité de la fraction protéique. Ces critères fondamentaux permettent seulement d'apprécier l'aptitude d'un aliment à fournir globalement des acides aminés. On sait maintenant que la définition des qualités d'une protéine alimentaire doit intégrer de nouvelles dimensions telles que :

- la capacité des protéines constitutives de l'aliment à libérer, lors de la digestion, des peptides ayant un effet biologique local ou systémique
- la vitesse de digestion qui peut, dans certains cas, avoir une influence directe sur l'assimilation des acides aminés par l'organisme

## 1. Critères classiques d'évaluation de la qualité de la fraction protéique

La viande est un aliment hétérogène, selon l'origine de la chair (ruminants, autres herbivores, monogastriques, oiseaux), selon les muscles considérés qui sont eux-mêmes complexes sur le plan structural et biochimique, et selon les préparations employées pour les transformer en aliments divers. Les viandes présentent cependant un certain nombre de caractéristiques nutritionnelles communes (Biesalski 2005). Elles sont très riches en protéines (50 à 80 % de l'énergie), et, avec le poisson, ce sont les aliments frais qui en contiennent le plus. De plus, ces protéines qui sont particulièrement riches en acides aminés indispensables, notamment en lysine et histidine, ont un équilibre en acides aminés indispensables proche du besoin de l'Homme, de l'enfant à l'adulte. Cela signifie que les protéines de la viande sont utilisées avec une grande efficacité pour accroître ou renouveler les protéines corporelles car il n'est pas nécessaire d'apporter de grandes quantités de protéines pour couvrir les besoins en chacun des acides aminés indispensables, contrairement à ce qui peut se produire lorsque les régimes ont des compositions déséquilibrées par rapport aux besoins en acides aminés indispensables. De plus, les fortes teneurs en lysine des protéines carnées en font un complément utile pour améliorer d'autres protéines des aliments comme celles apportées par les céréales.

En outre, l'utilisation digestive de ces protéines est globalement très élevée (Silvester 1995), et les protéines n'induisent pas de réactions notables au niveau du tractus digestif susceptibles d'accroître les pertes endogènes comme cela peut se produire avec des aliments riches en fibres.

Du fait, d'un équilibre favorable en acides aminés indispensables et d'une utilisation digestive très complète, la biodisponibilité des acides aminés de la viande est très élevée ce qui lui confère une forte valeur biologique (Young 1975). Ainsi, dans le cadre d'une alimentation équilibrée, une consommation de viandes et poissons n'a pas à être supérieure à 120 g/j de façon durable pour des adultes sains sans dépenses particulières. Dans ces conditions, la part des apports journaliers qui est assurée par la viande est variable selon les nutriments. Elle est supérieure à : 60 % pour certains acides aminés indispensables, la vitamine B12 et le zinc ; à 40 % pour la vitamine B3 et le cholestérol ; à 20 % pour le fer, le sélénium, la riboflavine, la vitamine B6 et l'acide pantothénique et les acides gras saturés.

## 2. Peptides bioactifs

De plus en plus de résultats démontrent les effets physiologiques de certains peptides présents dans l'aliment ou produits par la digestion des protéines alimentaires, sur l'activité du tractus digestif ou d'autres fonctions physiologiques (activité antihypertensive, opioïde, immunomodulatrice, anxiolytique). Parmi les peptides présents dans les aliments certains sont pré-formés et abondants dans le substrat alimentaire originel, et leur synthèse n'emprunte pas les voies habituelles de la synthèse et de la dégradation des protéines; ce sont par exemple pour les viandes la carnosine et le glutathion. D'autres sont présents à l'intérieur des protéines et peuvent être libérés lors des procédés de transformation des aliments ou lors de la digestion intestinale.

#### a/ Carnosine

La carnosine est un dipeptide (β-alanine-L-histidine) présent exclusivement dans les tissus animaux. Elle est particulièrement abondante dans le cerveau et le muscle squelettique des mammifères. Sa concentration est plus élevée dans les muscles à métabolisme glycolytique (Aristoy 1998, Cornet 1999) ; elle peut varier selon l'espèce animale (Crush 1970), l'âge et/ou l'alimentation (Watanabe 2004, Purchas 2005). La concentration en carnosine dans la viande est globalement peu affectée par le mode de maturation et la cuisson (Savary-Auzeloux 2006, Bauchart 2007).

La principale activité biologique de la carnosine semble être son pouvoir tampon (Abe 2000) qui permet, par exemple, de neutraliser la diminution du pH intracellulaire liée à production d'acide lactique dans les muscles où la glycolyse anaérobie est particulièrement active. Ainsi, chez le sportif, l'augmentation de la concentration en carnosine dans les muscles semble pouvoir atténuer la fatigue après des exercices intensifs (Hill 2007). Cependant, son effet sur les performances sportives proprement dîtes est controversé (Hoffman 2006, Kendrick 2008). La carnosine présente également des propriétés antioxydantes par sa capacité à fixer des ions métalliques divalents, ainsi que sa capacité à piéger les radicaux libres (Guitto 2005). De plus, elle semble capable de réduire les aldéhydes formés à partir des acides gras insaturés lors d'un stress oxydant. Elle aurait également un rôle prépondérant dans la protection contre la glycation et la réticulation des protéines (Hobard 2004, Lee 2005). Cette réticulation des protéines interfère avec leur fonction tissulaire et peut conduire à des agrégations de matériel cellulaire sous forme de plaques. Ainsi la carnosine pourrait jouer un rôle important dans la prévention des complications secondaires liées au diabète (Lee 2005), et la protection contre les désordres neurodégénératifs telles que la maladie d'Alzheimer (Hipkiss 2007). Les régimes riches en carnosine pourraient donc devenir particulièrement intéressants pour les personnes âgées (Hipkiss 2006).

En raison de la position spécifique du groupement aminé de la  $\beta$ -alanine, la carnosine n'est pas dégradée par des dipeptides hydrolases, mais par deux enzymes spécifiques appelées aminoacyl-histidine dipeptidases ou carnosinases. Une est présente en grande quantité dans de nombreux tissus tels que le rein, le foie et les poumons et en plus faible quantité dans le muscle squelettique et l'intestin grêle (Lenney 1976), et l'autre est présente spécifiquement dans le sérum (Jackson 1991). Malgré l'activité des carnosinases de l'intestin grêle et du sérum, l'ingestion de viande bovine provoque chez l'homme une augmentation rapide de la concentration plasmatique en carnosine (Park 2005). Une étude sur animal modèle suggère que 1/5 de la carnosine ingérée lors d'un repas de viande est effectivement absorbé et libéré dans le compartiment sanguin (Bauchart 2007b). Cette absorption est associée à une augmentation dans le sérum du pouvoir tampon qui n'est pas lié au bicarbonate (Susuki 2006) et de la capacité antioxydante (Antonini 2002, Bauchart 2007b). De plus, même si la carnosinase sérique hydrolyse une part importante de la carnosine absorbée, la disponibilité en ses précurseurs, histidine, mais surtout  $\beta$ -alanine, pourrait être suffisante pour assurer une augmentation de la synthèse et de la concentration en carnosine dans le muscle squelettique de l'homme (Harris 2006).

## b/ Gluthation

Le glutathion est un tripeptide (GSH : L-γ-Glutamyl-L-cysteinyl-glycine) dont la concentration est très élevée dans le foie, mais également importante dans le muscle squelettique. Contrairement à la carnosine le GSH n'est pas spécifique aux produits animaux ; on en trouve également des quantités importantes dans des végétaux tels que le brocoli et les épinards (Wierzbicka 1989). Du fait de la présence d'une fonction thiol sur le radical de la cystéine, le glutathion peut exister sous une forme réduite (GSH) ou sous une forme oxydée (GSSG). Le GSH constitue le principal antioxydant hydrosoluble des cellules animales. Il piège efficacement les radicaux libres, protégeant ainsi les cellules des dommages liés aux espèces réactives de l'oxygène (ROS). Les changements de concentrations en GSH et GSSG reflètent directement les altérations de leur potentiel redox. Le glutathion joue également un rôle dans la détoxication des xénobiotiques, dans le métabolisme de nombreuses molécules (leucotriènes, prostaglandines, formaldéhyde, methylglyoxal, oxyde nyrtrique, ...) et la régulation de l'expression et/ou l'activation de facteurs de transcription sensibles à l'oxydation et nécessaires au fonctionnement de la réponse antioxydante (Wu 2004). Les déficiences en glutathion contribuent au stress oxydant, qui joue un rôle clé dans le vieillissement et la genèse de nombreuses pathologies (Alzeimer, Parkinson, inflammation intestinale ...). Les études chez l'homme et l'animal montrent qu'une alimentation protéique adéquate est cruciale pour maintenir l'homéostasie du glutathion.

Il semble qu'une part du gluthation alimentaire puisse être absorbée intact (Hagen 1990), et participer à l'alimentation du compartiment intracellulaire en GSH des tissus périphériques (Favilli 1997). De plus le GSH joue un rôle important dans le maintien de l'intégrité de la muqueuse intestinale (Mårtensson 1990), et la présence de GSH dans l'alimentation, en plus du GSH d'origine biliaire, peut jouer un rôle important dans la réduction des peroxydes lipidiques présents dans la lumière intestinale (Yee 1992).

## c/ Peptides antihypertenseurs

Peu d'études sont à ce jour disponibles sur la potentialité des protéines de la viande à être des sources intéressantes de peptides bioactifs, l'activité biologique la plus recherchée ayant été l'activité antihypertensive basée sur l'inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE). Cette activité semble pouvoir se manifester dans des conditions normales d'alimentation, des études menées chez l'homme ayant montré une baisse significative de la pression artérielle par rapport à un groupe témoin, suite à l'ingestion répétée de lait fermenté qui contenait des peptides anti-hypertenseurs (Hata1996, Seppo 2003).

Plusieurs peptides inhibiteurs de l'ACE ont ainsi été mis en évidence dans des hydrolysats contrôlés de protéines musculaires : à partir de muscle squelettique hydrolysé avec de la thermolysine (Arihara 2001), à partir de myosine hydrolysée avec de la thermolysine (Nakashima 2002), à partir de troponine C hydrolysée avec de la pepsine (Katayama 2008), et à partir de protéines sarcoplasmiques hydrolysées par un mélange thermolysine, protéinase A et protéase type XIII (Jang 2005). Une étude *in vivo* sur animal modèle montre que, suite à l'ingestion de viande de bœuf, un nombre important de peptides est libéré de façon reproductible lors de la digestion (Tableau 1), et que beaucoup d'entre eux contiennent des séquences d'acides aminés connus pour avoir une activité inhibitrice de l'ACE (Bauchart 2007a). Pour exprimer leur activité au niveau périphérique, ces peptides devront cependant être libérés intacts par l'action des peptidases de la muqueuse, entrer dans la circulation sanguine, et être résistant aux peptidases plasmatiques. La possibilité d'une absorption de dipeptides antihypertensifs a été démontrée chez l'homme en utilisant une administration orale du dipeptide Val-Tyr (Matsui 2002), cependant l'importance d'une telle absorption suite à l'ingestion de protéines alimentaire renfermant un di- ou tripeptide bioactif n'a pour l'instant jamais été rapportée. Néanmoins, il a été montré qu'une substitution partielle des glucides alimentaires par de la viande rouge permettait d'abaisser la pression sanguine chez des personnes hypertensives (Hodgson 2006).

<u>Tableau 1</u>: Liste des peptides d'origine alimentaire identifiés par nano-LC-ion trap MS/MS dans les contenus intestinaux de porcs équipés de deux canules, duodénale et jéjunale, collectés pendant les 3 premières heures après l'ingestion de viande bovine cuite (FF – faux-filet; PP = pectoral profond; Pal = paleron). Les séquences bioactives contenues dans chaque peptide identifié sont reportées. (Bauchart 2007, et résultats non publiés)

Protéine	Viande	Position du	Séquence du	m/z (M+H <sup>+</sup> )	Séquences	A ativitá biologique
parent		fragment	fragment	ш/х (мттп )	bioactives	Activité biologique
Duodénum		-	-			
Actine	FF, PP, Pal	96-106	LRVAPEEHPTL	1261,70	VAP	Antihypertensive
	PP, Pal	97-106	RVAPEEHPTL	1148,61	VAP	Antihypertensive
	PP, Pal	24-33	AGDDAPRAVF	1018,50	PR, VF	Antihypertensive
	PP	171-180	YALPHAIMRL	1184.66	YALPHA,	Atil
					ALPHA, RL	Antihypertensive
	FF, PP, Pal	171-178	YALPHAIM	915,48	YALPHA	A ntihemantangira
					ALPHA	Antihypertensive
	PP	181-191	DLAGRDLTDDYL	1251.62	YL	Antihypertensive,
						Opioïde
	PP	31-41	AVFPSIVGRPR	1198.71	IVGRPR, GRP,	Antihypertensive
					VF, FP, PR, RP	
Myosine	PP	326-333	YFKIKPLL	1021.65	IKP	Antihypertensive
Fructose-1,6-	FF	19-31	IAHRIVAPGKGIL	1344,85	VAP	Antihypertensive
bisphosphate					PG	Antithrombotique
aldolase						
Créatine kinase	PP	193-202	LFDKPVSPLL	1128.67	VSP, LF	Antihypertensive
	FF, PP, Pal	193-201	LFDKPVSPL	902.5	VSP, LF	Antihypertensive
GA3PDH	FF, PP, Pal	231-240	FRVPTPNVSV	1115,62	-	=
Myoglobine	Pal	111-124	AIIHVLHAKHPSDF	1584,87	LH	Antioxydante
		147-154	YKVLGFHG	920,50	-	-
Jejunum						
Actine	FF, PP, Pal	31-41	AVFPSIVGRPR	1198,71	IVGRPR, GRP,	Antihypertensive
7 ICTITIC	11,11,141	31 11	TIVII SI V GIGIR	1170,71	VF, FP, PR, RP	rintingpertensive
	PP, Pal	32-41	VFPSIVGRPR	1127,67	IVGRPR, GRP,	Antihypertensive
	11,141	32 11	VII SI V GIG IC	1127,07	VF, FP, PR, RP	rintingpertensive
	Pal	33-41	FPSIVGRPR	1028,60	IVGRPR, GRP,	Antihypertensive
	1 41	33 11	TT SIV GRUIK	1020,00	FP, PR, RP	rintingpertensive
	Pal	33-40	FPSIVGRP	872.50	GRP, FP, RP	Antihypertensive
GA3PDH	FF, PP, Pal	231-240	FRVPTPNVSV	1115,62	-	-
Créatine kinase	PP, Pal	193-201	LFDKPVSPL	1015,58	VSP, LF	Antihypertensive
	PP, Pal	194-201	FDKPVSPL	902,50	VSP VSP	Antihypertensive

#### 3. Vitesse de digestion

Il a été clairement montré que la cinétique de la digestion des protéines alimentaires conditionne l'efficacité de leur assimilation; la cinétique optimale n'étant pas nécessairement la même pour tous les sujets. Par exemple, pour les personnes âgées, il semble préférable de concentrer l'apport journalier de protéines alimentaires sur un seul repas, ou d'ingérer des protéines rapidement digérées, de façon à accentuer l'augmentation de l'aminoacidémie postprandiale et relancer la synthèse protéique (Mosoni 2003). A partir de ces observations des stratégies nutritionnelles sont aujourd'hui développées pour lutter contre la fonte musculaire (sarcopénie) liée à l'âge. La viande pourrait dans ce cadre constituer un aliment très intéressant en raison de sa forte teneur en protéines très digestibles permettant de concentrer l'apport protéique sur un repas.

De même que dans le domaine des peptides bio-actifs, beaucoup d'études sur la cinétique de digestion ont été réalisées avec des protéines laitières (caséines, protéines du lactoserum), peu de données sont disponibles en ce qui concerne les protéines des produits carnées. Une étude récente sur des sujets âgés montre que la viande peut-être considérée comme une source de protéines rapidement digérées (Rémond 2007). Toutefois, cette vitesse d'assimilation dépend de la capacité masticatoire des personnes âgées, et plus particulièrement du degré de déstructuration du bol alimentaire lors de la déglutition. Plus lente chez les sujets à capacité masticatoire réduite que chez les sujets de même âge normalement dentés, elle induit une moindre augmentation de l'anabolisme protéique postprandial. L'intérêt de la consommation de viande pour lutter contre la fonte musculaire chez les personnes âgées, en particulier lorsqu'elle est associée à l'exercice physique (Campbell 1999), nécessiterait donc la prise en compte de leurs capacités masticatoires, et le développement de formes de présentation adaptées, permettant à la viande de manifester tout son potentiel.

## II. Impact des procédés de transformation sur les propriétés nutritionnelles

La viande est le résultat d'une série de réactions biochimiques qui, dès la mort de l'animal, se déroulent dans les cellules musculaires, et dont l'amplitude et la vitesse impactent la fonctionnalité des protéines et donc les qualités sensorielles, technologiques et nutritionnelles des viandes. En terme structural, la formation du complexe actomyosine, une fois les réserves énergétiques épuisées, se traduit par la perte de flexibilité du tissu musculaire et la rigidité des structures. Au niveau biochimique, les modifications des équilibres ioniques ainsi que l'acidification du tissu musculaire *post mortem* en condition anaérobie bouleversent l'équilibre pro/anti oxydant de la cellule, favorisant la génération d'espèces réactives à l'oxygène qui vont initier des réactions en chaînes d'oxydation des acides gras insaturés et des protéines. Par ailleurs l'acidification du milieu va favoriser la libération des protéases lysosomales et leur action de protéolyse en synergie avec le système protéolytique calcium-dépendant.

Parallèlement aux transformations biochimiques *post mortem*, l'application de la réfrigération aux carcasses constitue un premier traitement technologique dont l'objectif est d'assurer la qualité sanitaire des viandes.

Ensuite, les viandes subissent généralement un ou plusieurs traitements technologiques avant d'être consommées. Il existe une grande variété de traitements technologiques appliqués aux viandes, parmi lesquels on peut considérer 3 grandes classes : le traitement mécanique qui consiste à déstructurer le produit puis à le ré-assembler et le re-former ; le traitement chimique qui par action de solutés va modifier chimiquement la structure et la composition du tissu ; et le traitement thermique, dont les effets sont variables selon la température ciblée. Le traitement le plus couramment utilisé est le chauffage, exception faite pour le steak tartare et le carpaccio où les produits sont consommés crus après hachage et mélange avec des oignons et des épices pour le steak tartare et après marinage dans une solution de matière grasse acide pour le carpaccio.

Selon l'espèce animale dont la viande est issue certains procédés prédominent. Le traitement mécanique est largement utilisé pour la viande bovine. Il permet de valoriser les muscles des avants sous forme de steak haché qui représente près de 40% des achats. Environ 70% de la viande porcine subit au minimum un traitement technologique. Le produit phare est le jambon cuit qui allie traitement chimique (injection de sel), mécanique (barattage) et thermique. Pour la volaille, les produits élaborés représentent actuellement près de la moitié des volumes.

Il est clair que chacun des procédés interagit avec les composants de la matière première et participent à l'élaboration des qualités sensorielles et nutritionnelles des aliments obtenus. Cependant leur impact sur les caractéristiques structurales et biochimiques des protéines, et finalement sur la qualité nutritionnelle de la viande est encore peu documenté.

## 1. Modifications moléculaire et structurale des protéines

La structure native, en particulier secondaire, tertiaire et quaternaire, des protéines leur assure un rôle physiologique, métabolique, enzymatique, structural, etc... que les changements environnementaux induits par les traitements technologiques vont altérer. Quatre grands types d'interactions interviennent dans le repliement des chaînes polypeptidiques : les liaisons hydrophobes, les liaisons ioniques, les liaisons hydrogène et les ponts disulfure. Par ailleurs, les protéines interagissent avec les lipides et l'eau du tissu musculaire et ces interactions sont à la base de 3 propriétés fonctionnelles principales : la capacité à lier l'eau, des capacités émulsifiante et moussante et des propriétés viscoélastiques.

## a/ Dénaturation

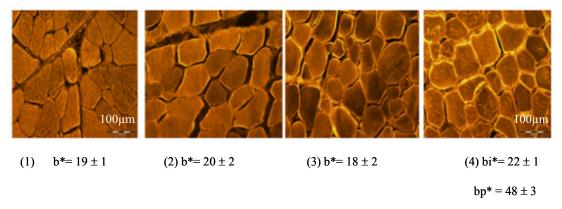
On parle de protéine dénaturée lorsque les changements induits au niveau de la structure quaternaire et tertiaire ne permettent plus à la protéine d'assurer sa fonction biologique. L'augmentation de la température a pour effet de rompre

en premier lieu les faibles liaisons hydrogène reliant les radicaux de la chaîne. De même, en milieu trop acide, trop alcalin ou très concentré en électrolytes, la plupart des protéines se dénaturent. Les régions hydrophobes se tournent alors vers l'extérieur de la molécule alors que les hydrophiles se rassemblent au centre. Cela conduit à une perte de solubilité des protéines, leur précipitation et pour certaines leur gélification. Par calorimétrie différentielle, Staburski (1984) a montré qu'à des températures de 58°C et 66°C, la myosine de porc présentait des transitions structurales, synonymes de changement de conformation, alors que pour l'actine, le pic se situe à 78°C. Des sondes hydrophobes permettent d'évaluer également l'hydrophobie des protéines induite par les traitements technologiques, que ce soit avec l'ANS (8-anilino-1-naphtalene sulfonic acid), le BBP (bleu de bromophénol) ou le Nile Red (Chelh 2006). Lors du chauffage, l'hydrophobie des protéines augmente très rapidement et reste stable ensuite pendant la durée du traitement thermique (Santé-Lhoutellier 2008a).

## b/ Oxydation

Pour lutter in vivo contre le stress oxydant la cellule musculaire dispose de systèmes antioxydants liposoluble et hydrosolubles qui limitent ou annihilent les réactions radicalaires. Cependant, post mortem, la balance entre système pro et antioxydant penche vers l'oxydation pendant les phases de maturation des viandes, phénomène qui s'accentue durablement pendant les traitements technologiques. Le chauffage, le hachage et l'ajout de solutés favorisent en effet la formation de radicaux libres oxygénés (oxygène singulet <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, radical superoxyde O2°, radical hydroxyle OH°). Ces radicaux comportent un ou plusieurs électrons non appariés qui leur confèrent une forte réactivité chimique sur les constituants cellulaires avec lesquels ils vont échanger un électron; ils sont à l'origine d'une cascade de phénomènes radicalaires. Astruc (2007) ont montré par un marquage immuno-chimique au DNPH sur coupe tissulaire que l'oxydation des protéines était initialement localisée dans les membranes et que ce phénomène est d'autant plus marqué que la durée de chauffage est longue et que la température est élevée (Figure 1). L'oxydation des protéines par les radicaux libres concerne 3 classes d'acides aminés : les acides aminés basiques, les acides aminés soufrés et les acides aminés aromatiques. Les acides aminés basiques (particulièrement la lysine et l'arginine) subissent une désamination oxydative en présence d'un radical hydroxyle, générant un groupement carbonyle. L'oxydation des cystéines conduit à la formation de ponts disulfure. L'oxydation de la méthionine va donner de la méthionine sulfone et de la méthionine sulfoxyde. Enfin l'oxydation des acides aminés aromatiques par le radical hydroxyle conduit pour la phénylalanine à la formation de tyrosine, pour la tyrosine à de la bityrosine et pour le tryptophane à de l'hydroxytryptophane. La formation de molécules bityrosine se révèle être un marqueur discriminant de l'oxydation des myofibrilles (Morzel 2006).

<u>Figure 1 :</u> détection des carbonyles sur coupe tissulaire de mucle Rectus abdominis bovin. L'indice de jaune b\* est évalué par spectrocolorimétrie ; bi\* signifiant indice de jaune à l'intérieur de la cellule et bp\* signifiant indice de jaune en périphérie cellulaire ou membranaire



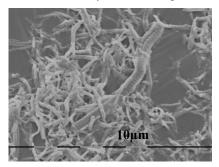
- (1 to 3) détection des carbonyles sur coupe tissulaire de muscle Rectus abdominis bovin après un chauffage à 100°C pendant 0 min (1), 15 min (2), 30 min (3)
- (4) détection des carbonyles sur coupe tissulaire de muscle Rectus abdominis bovin après après un chauffage à 270°C pendant 1 min

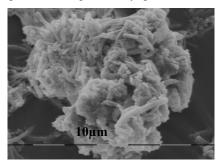
## c/ Agrégation protéique

L'agrégation résulte de nouvelles interactions entre les chaînes polypeptidiques, qu'elles soient liées à l'oxydation ou aux changements de conformation. La formation de carbonyles, de ponts disulfure ou bityrosine, les modifications de la charge et l'augmentation de l'hydrophobie à la surface des protéines provoquent des polymérisations et des agrégations protéiques (Davies 1987; Stadtman 1990, 1993; Grune 2004). De plus, la formation de protéines glyquées (produits de la réaction de Maillard), dont la quantité s'accroît de façon considérable lors d'un chauffage intense en présence de glucides (Koschinsky 1997) participe à la formation de ces agrégats. Dans le tissu vivant, les protéines chaperones (famille des HSP) jouent un rôle essentiel dans le repliement et la conformation des protéines pour prévenir l'agrégation protéique (Lindquist 1988; Glover 1998). L'action de l'α-cristalline (HSP de 22 kDa) dans le maintien de l'activité enzymatique de la myosine et la prévention de son agrégation a été démontrée dans des conditions de température supra

physiologique (Melkani 2006). Cependant, *post mortem* et lors des traitements technologiques, la stabilité et l'activité des HSP n'a cependant pas été encore étudiée. Dans le tissu musculaire, les protéines myofibrillaires et en particulier la myosine présentent une tendance à établir des interactions intermoléculaires sous l'action d'éléments oxydants (Liu 2000, Kamin-Belski 1996, Santé-Lhoutellier 2007) ou après traitement thermique (Liu 2000, Lefèvre 2008). La caractérisation et l'étude des mécanismes sous-jacents à la formation des agrégats révèlent que l'oxydation de la myosine conduit à la formation de structures de haut poids moléculaires que les techniques classiques de séparation des protéines sur gel d'acrylamide ne permettent pas d'appréhender. Néanmoins, par des techniques de mesure de turbidité, de diffraction de lumière ou de microscopie, il est possible d'étudier la taille et la forme de ces structures (Figure 2).

Figure 2 : Observation de myofibrilles de porc en microscopie électronique à balayage





(a) Myofibrilles de porc non chauffées

(b) Myofibrilles de porc chauffées à 70°C

#### 2. Conséquences nutritionnelles

Si la viande présente *a priori* des qualités nutritionnelles intéressantes, en raison de sa composition en acides aminés indispensables, de son contenu en peptides d'intérêt, et de sa forte digestibilité, l'impact des modifications qui affectent les protéines lors des traitements technologiques sur la qualité nutritionnelle de ses protéines mérite d'être évalué en fonction des nouvelles connaissances. Ces altérations de la viande *post mortem* (maturation, traitements technologiques ...) peuvent induire une diminution de la biodisponibilité des acides aminés essentiels, par des modifications dans la nature des produits terminaux de la digestion (peptides plus moins résistants), mais également par des modifications de la vitesse de digestion.

De nombreux travaux, généralement réalisés sur des protéines du lait, ont montré que les traitements technologiques, notamment le chauffage, pouvaient avoir des effets délétères sur l'absorption des acides aminés, par l'intermédiaire de la formation de produits de la réaction de Maillard, la formation de lysinoalanine, la formation de ponts disulfures ou encore l'isomérisation des acides aminés de la forme L sous la forme D (Finot 2005). En pratique, dans les produits carnés ces modifications semblent cependant limitées en raison, entre autres, des barèmes de température utilisés.

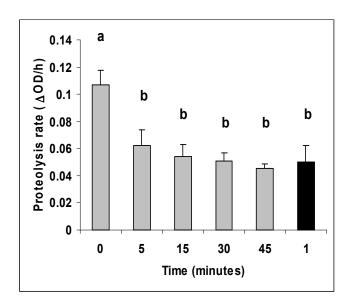
Les travaux anciens, basés sur des mesures de digestion dans l'ensemble du tube digestif du rat, montrent que la digestibilité totale des protéines de la viande est très élevée, et qu'elle est peu affectée par les traitements thermiques (Laser-Reuterssward 1982). Ces mesures ne permettent cependant pas de distinguer la digestion dans l'intestin grêle. pourvoyeuse d'acides aminés, de la dégradation microbienne dans le gros intestin, qui peut conduire à la production de dérivés toxiques tels que les composés nitrosés (Bingham 2002) et les sulfures (Magee 2000). La digestibilité dans l'intestin grêle des protéines de la viande a été rarement mesurée, et il n'existe pas de travaux permettant d'évaluer l'impact des traitements technologiques sur ce paramètre. Cependant de récents travaux réalisés in vitro suggèrent que cet impact pourrait ne pas être négligeable. En effet, il a été montré que le degré d'hydrophobie des protéines intervenait dans la reconnaissance des protéines par les protéases (Davies, 2001, Santé-Lhoutellier 2008b). Ainsi, les enzymes protéolytiques du tube digestif fonctionnent plus lentement, ou sont incapables de digérer la protéine si celle-ci n'est pas reconnue par le site actif de l'enzyme (Figure 3). De même en présence de myosine oxydée et sous forme d'agrégats moléculaires, l'activité de la pepsine, la trypsine et la chymotrypsine est réduite et les digestats renferment des fragments protéiques hétérogènes et de poids moléculaires supérieurs au témoin non oxydé (Kamin-Belski 1996, Liu 2000). Ainsi, les modifications structurales et biochimiques des protéines pourraient agir non seulement sur la digestibilité dans l'intestin grêle (biodisponibilité en acides aminés vs fermentation colique), mais également sur la nature des produits terminaux (effet sur la libération de peptides bioactifs), ainsi que sur la vitesse de digestion.

#### Conclusions

Les progrès des connaissances sur les peptides bioactifs permettent de réactualiser la notion de qualité nutritionnelle des protéines alimentaires, traditionnellement fondée sur leur composition en acides aminés indispensables et leur digestibilité, en y intégrant d'autres propriétés susceptibles d'avoir un impact sur la santé et de mieux replacer ces aliments dans le cadre d'une alimentation équilibrée. Ainsi par sa teneur en carnosine, et la potentialité de ses protéines à libérer des peptides bioactifs, notamment antihypertenseur, la viande pourrait présenter de nouveaux atouts nutritionnels. De plus, sa forte teneur en protéine et sa vitesse de digestion élevée en font un aliment de choix dans les stratégies nutritionnelles développées pour contrecarrer la sarcopénie liée au vieillissement. La digestion dans l'intestin grêle (produits terminaux, vitesse), jusque là peu étudiée, demeure un point clé dans la progression de nos

connaissances de l'impact positif ou négatif sur la qualité nutritionnelle des modifications biochimiques et structurales des protéines induites par les procédés technologiques.

<u>Figure 3</u>: Effet de la durée de chauffage (100°C) sur la vitesse de protéolyse des protéines myofibrillaires par la pepsine. La barre noire correspond à un chauffage à 270°C pendant 1 min.



## Références bibliographiques

Abe H., 2000. Biochem. (Mosc.), 65, 757-765.

Antonini F.M., Petruzzi E., Pinzani P., Orlando C., Pogessi M., Serio M., Pazzagli M., Masotti G., 2002. Arch. Gerontol. Geriatr., 8, 7-14.

Arihara K., Nakashima Y., Mukai T., Ishikawa S., Itoh M., 2001. Meat Sci., 57, 319-324.

Aristoy M.C., Toldra F., 1998. Meat Sci., 50, 327-332.

Astruc T., Marinova P., Labas R., Gatellier P. & Santé-Lhoutellier V., 2007. J. Agric. Food Chem. 55(23): 9554-9558 Bauchart C., Rémond D., Chambon C., Patureau Mirand P., Savary-Auzeloux I., Reynès C., Morzel M., 2007. Meat Sci., 74,658-666.

Bauchart C., Morzel M., Chambon C., Patureau Mirand P., Reynès C., Caroline Buffière C., Rémond D., 2007a. Br. J. Nutr., 98, 1187-1195

Bauchart C., Savary-Auzeloux I., Patureau Mirand P., Thomas E., Morzel M., Rémond D., 2007b. J. Nutr., 137, 589-593

Biesalski H.K., 2005. Meat Sci. 70, 509-524.

Bingham S., 2002 J. Nut. 132: 3522-5

Campbell W. W., Barton M. L., Cyr-Campbell D., Davey S. L., Beard J. L., Parise G., Evans W. J., 1999. Am. J. Clin. Nutr., 70, 1032-1039.

Chelh I., Gatellier P., Santé-Lhoutellier V., 2006. Meat Sci. 47, 681-684

Cornet M., Bousset J. 1999. Meat Sci, 51, 215-219.

Crush, K.J., 1970. Comp. Biochem. Physiol., 34, 3-30.

Davies K.J.A., Delsignore M.E., Lin S.W., 1987. J Biol Chem. 262,9902-9907.

Favilli F., Marraccini P., Iantomasi T., Vincenzini M.T., 1997. Br. J. Nutr., 78, 293-300.

Finot P.A., 2005. Journal AOAC International 88, 894-903.

Glover J.R., Lindquist S., 1998. 94, 73-82.

Grune T., Jung T., Merker K., Davies K.J.A., 2004. Int J. Biochem. Cell Biol. 36, 2519-2530.

Guitto, A.; Calderan, A.; Ruzza, P.; Borin, G., 2005. Curr Med Chem. 12, 2293-2315.

Hagen T.M., Wierzbicka G.T., Sillau A.H., Bowman B.B., Jones D.P., 1990, Am J. Physiol., 259, G524-G529.

Harris R.C., Tallon M.J., Dunnett M., Boobis L., Coakley J., Kim H.J., Fallowfield J.L., Hill C.A., Sale C., Wise J.A., 2006. Amino Acids, 30, 279-289.

Hata Y., Yamamoto M., Ohni M., Nakajima K., Nakamura Y., Takano T., 1996. Am. J. Clin. Nutr., 64, 767-771.

Hill C.A., Harris R.C., Kim H.J., Harris B.D., Sale C., Boobis L.H., Kim C.K., Wise J.A., 2007. Amino acids, 32, 225-233

Hipkiss, A.R. 2006. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1067, 369-374.

Hipkiss, A.R., 2007. Journal of Alzheimer's disease, 11, 229-240.

Hobard L.J., Seibel I., Yeargans G.S., Seidler N.W., 2004. Life Sci., 75, 11, 1379-89.

Hoffman J., Ratamess N., Kang J., Mangine G., Faigenbaum A., Stout J., 2006. Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab., 16, 4, 430-446.

Hocquette J.F., 2005 J. Physiol. Pharmacol 56(3): 37-70

Hodgson J.M., Burke V., Beilin L.J., Puddey I.B., 2006. Am. J. Clin. Nutr., 83, 780-787.

Jackson M.C., Kucera C.M., Lenney J.F., 1991. Clinica Chimica Acta, 196, 193-205.

Jang A., Lee M., 2005. Meat Sci. 69, 653-661.

KaminBelsky N., Brillon A.A., Arav, R. Shaklai N., 1996. J. Agric. Food Chem., 44 (7), 1641-1646.

Katayama K., Anggraeni H.E., Mori T., Ahhmed A.M., Kawahara S., Sugiyama M., Nakayama T., Maruyama M., Muguruma M., 2008. J. Agric. Food Chem., 56, 355-360.

Kendrick I.P., Harris R.C., Kim H.J., Kim C.K., Dang V.H., Lam T.Q., Bui T.T., Smith M, Wise J.A., 2008. Amino acids, 34:547-554.

Laser-Reutersward A., Asp N.G., Bjorck I.B., Ruderus H., 1982. J. Food Technol. 17, 115-123.

Lee Y.T., Hsu C.C., Lin M.H., Liu K.S., Yin M.C., 2005. Eur. J. Pharmacol., 513, 145-150.

Lefèvre F., Fauconneau B., Thompson J., Gill T., 2007. J. Agric. Food Chem., 55, 4561-4570.

Lenney J.F., 1976. Biochim. Biophys. Acta, 429, 214-219.

Lindquist S., Craig E., 1988. Annu Rev. Genet. 22,631-677.

Liu G., Xiong Y.L., 2000 . J. Agric Food Chem 48: 624-630.

Magee E.A., Richardson C.J., Hughes R., Cummings J.H., 2000. Am. J. Clin. Nutr., 72, 1488-1494.

Mårtenson J., Jain A., Meister A., 1990. Proc. Natl. Acad. Sci., 87, 1715-1719.

Matsui T., Tamaya K., Seki E., Osajima K., Matsumoto K., Kawasaki T., 2002. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 29, 204-208.

Melkani G., Cammarato A., Bernstein S., 2006. J. Mol. Biol. 358, 635-645.

Mosoni L., Patureau Mirand P., 2003. Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care, 6:301-306.

Morzel M., Gatellier P., Sayd T., Renerre M., Laville E., 2006. Meat Sci., 73, 536-543.

Nakashima Y., Arihara K., Sasaki A., Mio H., Ishikawa S., Itho M., 2002. J Food Sci., 67, 434-437.

Park Y.J., Volpe S.L., Decker E.A., 2005. J. Agric. Food Chem., 53, 4736-4739.

Purchas R.W., Busboom J.R., 2005. Meat Sci., 70, 589-596.

Rémond D., Macheboeuf M.; Yven C., Buffière C.; Mioche L.; Mosoni L., Patureau Mirand P., 2007. Am. J. Clin. Nutr. 85, 1286-1292.

Santé-Lhoutellier V., Aubry L., Gatellier P., 2007. J Agric. Food Chem. 55, 5343-5348.

Santé-Lhoutellier V., Astruc T., Marinova P., Grève E., Gatellier P., 2008a. J Agric. Food Chem. 56, 1488-1494.

Santé-Lhoutellier V., L. Théron, M. Cepeda, A. Grajales, P. Gatellier., 2008b. Br. Poultry Sci., 49, 308-314.

Savary-Auzeloux I., Ortigues-Marty I., Bauchart D., Thomas E., Scislowski V., Peyron A., Durand D., 2006. 11<sup>ième</sup> JSMTV Clermont-Fd, pp 101-102.

Scollan N.D., Richardson I., de Smet S., Moloney A.P., Doreau M., Bauchart D., Nuernberg K., 2005. In: Indicators of milk and beef quality. pp151-162. JF Hoquette & S Gigli Editors. Wageningen Academic Publishers; Wageningen, Netherlands.

Seppo L., Jauhiainen T., Poussa T., Korpela R., 2003. Am. J. Clin. Nutr., 77, 2, 326-330.

Silvester K. R., Cummings J. H., 1995. Nutr. Cancer 24, 279-288.

Staburski E., Fretheim K., Froystein T., 1984. J. Sci. Food Agric. 35, 240-244

Stadtman E.R., 1990. Free Radical Biol. Med. 8, 315-325...

Stadtman E.R., 1993. Annu. Rev. Biochem. 62, 797-821.

Susuki Y.T., Nakao T., Maemura H., Sato M., Kamahara K., Morimùatsu F., Takamatsu K., 2006. Med. Sci. Sports Exerc., 38, 2, 334-338.

Watanabe A., Ueda Y., Higuchi M., 2004. Anim. Sci. J., 75, 361-367.

Wierzbicka G.T., Hagen T.M., Jones D.P., 1989. J. Food Comp. Anal., 2, 327-337.

Wu G., Fang Y.Z., Yang S., Lupton J.R., Turner N.D., 2004. J. Nutr., 134, 489-492.

Yee T., Williams M.W., 1992. Am. J. Physiol., 263, G665-G672.

Young V. R., Fajardo L., Murray E., Rand W. M., Scrimshaw N.S., 1975. J. Nutr., 105, 534-542.

## LA CUISSON DES VIANDES ET PRODUITS CARNES ET LE COUPLAGE AVEC LES REACTIONS A L'ORIGINE DE LA QUALITE

## KONDJOYAN A.

UR370 Qualité des Produits Animaux, INRA, F-63122 Saint Genès Champanelle Tél.: 04 73 62 44 92 – Fax.: 04 73 62 40 89 email.: alain.kondjoyan@inra.clermont.fr

Dans la société actuelle, les viandes et produits carnés sont presque toujours cuits avant d'être consommés. La cuisson sert à la fois à détruire les micro-organismes pathogènes ou d'altération et à conférer à l'aliment des qualités sensorielles qui sont spécifiques du produit cuit. La cuisson a aussi généralement un impact sur les qualités toxico-nutritionnelles du produit. L'objectif de cette présentation est de décrire les phénomènes physiques mis en jeux lors de la cuisson des produits carnés et le couplage de ces phénomènes avec les réactions biochimiques qui sont responsables de l'évolution sensorielle et toxico-nutritionnelle du produit. Les aspects microbiologiques et leurs conséquences en terme sanitaire ou de conservation ne seront pas abordés ici.

## Technologie de cuisson et phénomènes physiques mis en jeu

Les technologies mises en œuvre lors du chauffage ou de la cuisson des viandes et produits carnés peuvent être classées en fonction du mode majoritaire d'apport d'énergie. On distingue les modes de chauffage par immersion dans un liquide (viandes bouillies, fritures...), par contact (poêle, grill...), par convection, par rayonnement (infrarouge ou micro-ondes), par changement d'état (vapeur...), par conduction électrique (chauffage ohmique). Chaque type de technologie possède ses avantages et ses limites.

Les traitements par immersion conduisent à un échange de surface efficace et peuvent être intéressants : (1) pour traiter des produits de grandes dimensions souvent emballés sous vide, ou (2) lorsque le produit n'est pas emballé pour le chauffer et le déshydrater rapidement (friture). La cuisson par contact est intéressante en tant que traitement de surface mais elle est limitée par la qualité du contact thermique et donc en général dédiée à des cuissons courtes de tranches peu épaisses. La cuisson micro-ondes est utilisée pour réchauffer ou cuire rapidement un volume de produit dont la dimension sera restreinte par la profondeur de pénétration des ondes hyperfréquences. La tendance actuelle est d'évoluer vers des technologies rapides pour cuire des produits emballés dont la composition est complexe (plats cuisinés à base de viande). Le procédé pouvant être décomposé en plusieurs étapes entrecoupées de périodes de conservation (pré-cuissons industrielles suivies d'une cuisson ménagère...). Cette évolution conduit souvent au développement de technologies combinant simultanément plusieurs modes d'apport d'énergie (convection, changement d'état, rayonnement infrarouge, micro-ondes...).

Du point de vue de la qualité du produit, l'origine de l'apport d'énergie importe peu, ce sont ses conséquences en termes d'évolution des températures et des concentrations en eau et en réactifs qui sont importantes. Ces évolutions doivent être suivies à l'échelle locale car, dans les produits solides, les traitements ne sont jamais homogènes. Les modes de cuissons traditionnels (convection, contact, immersion, rayonnement infrarouge...) conduisent à une hétérogénéité entre le centre et la surface du produit. Tandis que le chauffage ou la cuisson micro-ondes conduisent à des hétérogénéités plus complexes liées : soit à la forme géométrique du produit (surchauffe des coins et angles ou du centre du produit dans les géométries cylindriques...), soit à sa composition (teneur en eau, en gras, en conjonctif, en os...). Lors de la cuisson, les transferts de chaleur et de matière s'effectuent majoritairement par conduction/diffusion jusqu'à ce que la température de la viande atteigne 50°C. Dès que la température dépasse 50°C, les protéines des myofibres commencent à se dénaturer. A partir de 55°C-60°C, cette évolution s'accompagne d'une forte contraction des fibres de collagène. La dénaturation des protéines et la contraction du collagène entrainent une expulsion de jus sous contraintes mécaniques, une déformation de la géométrie du produit et une forte réduction de son volume. Ces phénomènes dépendent à la fois de la conduite du procédé et des caractéristiques de la matière première (composition, pH, longueur initiale des sarcomères...). Dans des conditions de cuisson classiques, des pertes en eau de 25% à 40% ont été enregistrées pour de la viande de bœuf (Larroche, 1982, 1988). Le niveau des pertes est en général associé à la température finale de cuisson. Mais il est clair que ces pertes évoluent également avec le temps de traitement. Le transfert de jus dans le produit, la variation de sa teneur en eau, de son volume et la déformation de sa géométrie modifient les transferts de chaleur, qui en retour font varier la cinétique de la dénaturation protéique et de la contraction du collagène. Ces phénomènes sont donc fortement couplés. Si le produit non emballé est mis en contact avec l'air, une évaporation se produit à sa surface qui s'accélère fortement dès que sa température devient supérieure à 100°C. Il se forme alors une croûte, qui constitue une barrière pour les transferts de chaleur comme pour les transferts de matière (Skjöldebrand, 1980).

Dans la littérature, l'évolution du produit est le plus souvent considérée de manière moyenne et les conditions thermiques/hydriques auxquelles il est soumis ne sont décrites que de manière très globale. Le plus souvent, seules sont précisées la température moyenne existant dans l'appareil ou sa puissance énergétique ainsi que la cinétique de température enregistrée au centre du produit. Ces renseignements sont insuffisants pour comparer correctement les résultats obtenus dans différents appareils. Il n'est alors pas possible d'optimiser le fonctionnement d'un appareil, ou de concevoir un appareil nouveau, sans passer par une lourde démarche expérimentale, qui doit être réitérée au cas par cas.

Pour aller plus loin, il faut être capable : (1) de quantifier les transferts dans l'appareil, et (2) de mesurer l'évolution des températures et des concentrations en de nombreux points au sein du produit, ce qui est loin d'être trivial pour des produits solides dont la géométrie varie fortement en cours de cuisson. La modélisation des transferts de chaleur et d'eau/solutés s'avère alors être un outil conceptuel puissant pour quantifier les phénomènes, réduire le nombre d'expériences, et prédire l'évolution du produit dans des conditions non mesurables. Mais la construction de ces modèles doit être rigoureuse et leur réponse soigneusement validée. Or dans la littérature la validation ne s'effectue souvent que par une simple mesure de perte de poids et de la température au centre du produit (Huang et Mittal, 1995 ; Chen et al. 1999). Lors de la cuisson par immersion la difficulté principale est de tenir compte de la complexité de la géométrie du produit et de la variation de composition (Siripon et al., 2007).

La cuisson de steaks hachés par contact a été analysée et modélisée dans plusieurs publications. Les transferts de matière au sein du produit qui dépendent en particulier de sa teneur en gras et de sa porosité sont rarement pris en compte dans les modèles (Oroszvari, 2004). Ceux-ci se contentent de décrire les transferts de chaleur au sein de la matrice, le transfert de matière n'étant pris en compte que dans le facteur d'évaporation de surface (Shilton et al., 2002). La situation diffère selon que le contact existe au niveau d'une seule face (Ikedia et al., 1996; Ou et Mittal, 2007) ou des deux faces du steak (Dagerskog, 1979; Pan et al., 2000; Ou et Mittal, 2006). Lorsque le contact n'est établi que sur une face du produit les modèles doivent tenir compte de l'évolution temporelle des conditions aux limites, et en particulier du retournement du produit sur la plaque (figure 1). La validation de ces modèles est toujours limitée par les difficultés de mesures et leurs potentialités restreintes par : (1) le fait que le transfert de matière dans le produit n'est pas pris en compte, ou considéré comme purement diffusif, (2) la croûte n'est pas modélisée, ou décrite d'une manière extrêmement simplificatrice (épaisseur fixe, ou variant en fonction d'un seuil de température), (3) la variation de la résistance de contact n'est pas considérée.

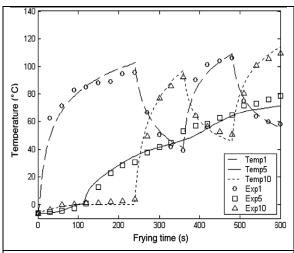


Figure 1: Températures mesurées et simulées lors de la cuisson par simple contact d'un steak haché de 9.5 mm d'épaisseur sur une plaque portée à 160°C. Temp 5, 1 et 10 correspondent aux températures simulées respectivement au centre, et à proximité des 2 faces de l'échantillon. Les symboles correspondent aux mesures effectuées aux mêmes points (d'après Ou et Mittal, 2007).

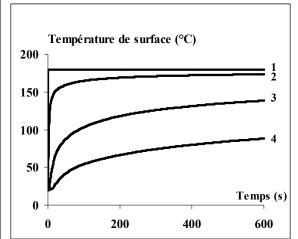


Figure 2: Température de surface simulée lors de la cuisson par contact d'un échantillon de viande de bœuf de 4 cm d'épaisseur sur une plaque portée à 180°C. La résistance de contact RTC, est respectivement de : (1) 0, (2) 0,001, (3) 0,01, (4) 0.03 W<sup>-1</sup> m<sup>2</sup> K.

La figure 2 permet d'apprécier l'effet de la résistance thermique de contact sur la valeur de la température simulée lors de la cuisson par contact d'un échantillon de viande de bœuf de 4 cm d'épaisseur sur une plaque portée à 180°C. La résistance thermique de contact entrée dans le modèle prend successivement les valeurs suivantes : 0, 0,001, 0,01, 0,03. La valeur 0 correspond à un contact parfait, 0,001 à une épaisseur de 1 mm de jus et 0,01 et 0,03 à, respectivement, 0,3 et 1,0 mm d'air entre la plaque et la viande. Le contact parfait est un cas extrême où la température de surface atteint quasiment instantanément celle de la plaque, tandis que la présence d'un millimètre d'air correspond à une zone de non-contact liée à une déformation notoire de la viande. Mais même en éliminant ces cas extrêmes, l'incertitude sur la valeur de la RTC conduit à des écarts de température de surface simulée de l'ordre de 30°C. Il est donc indispensable pour les deux configurations étudiées de développer des modèles et des méthodes expérimentales pour rendre compte de la formation de la croûte et pour décrire au mieux les conditions aux limites. Un travail basé sur les techniques numériques inverses est en cours à l'INRA-QuaPA pour mieux répondre à ces problèmes.

Bien que le fonctionnement de certains fours ait été modélisé dans la littérature (Mistry et al., 2006), il existe peu de publications permettant de prédire les conséquences du chauffage sur la température et la teneur en eau au sein du produit. Deux types de situations ont été modélisées pour décrire la cuisson d'une viande de bœuf dans un four. Dans le premier cas, la convection forcée était prépondérante et accompagnée d'un fort séchage et d'une formation rapide de croûte en surface de la viande (Skjöldebrand, 1980; Holtz et Skjöldebrand, 1986). Dans le deuxième cas, la cuisson s'effectuait par rayonnement et par convection forcée et l'évaporation en début de traitement était moins importante. De plus, comme le four était supposé être de petites dimensions, l'évaporation était limitée par l'accumulation de vapeur d'eau dans l'enceinte (Singh et al., 1983; Obuz et al., 2002). Le premier cas a été modélisé en séparant deux parties dans le produit : la croûte et le cœur (Holtz et Skjöldebrand, 1986). La croûte était définie comme étant la zone où la température était strictement supérieure à 100°C. Le coefficient de transfert, le taux d'évaporation et le temps de début de formation de la croûte étaient ajustés dans le modèle en fonction des mesures. Dans le deuxième cas, l'accumulation de vapeur d'eau dans l'enceinte était supposée conduire à une température humide de l'air de 100°C à la fin de la cuisson. L'activité de l'eau en surface était donc supposée rester égale à 1.0 jusqu'à la fin du traitement (Singh et al., 1983; Obuz et al., 2002). Mais cette hypothèse qui dépend en fait du taux de fuite dans le four n'a pas été vérifiée. De plus, dans les modèles, ni la migration d'eau dans le produit, ni sa rétraction n'étaient prises en compte. Or la rétraction conduit à une variation de la position des points de mesure en cours de cuisson, ce qui peut complètement changer l'interprétation des résultats, surtout à proximité de la surface

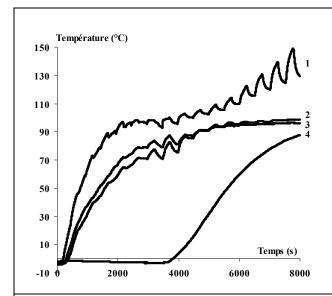
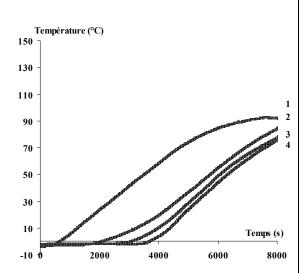


Figure 3a: Températures mesurées au sein d'une pièce de viande placée dans un four à convection forcée avec une température d'air de 190°C. La partie inférieure de la pièce de viande était isolée thermiquement. Les positions initiales des thermocouples étaient par rapport à la surface de : (1) 2 mm, (2) 4 mm, (3) 6 mm et (4) 10 mm.



<u>Figure 3b</u>: Températures mesurées au sein d'une pièce de viande placée dans un four à convection forcée dans les mêmes conditions que celles de la figure 3a. Les positions initiales des thermocouples sont, à priori, les mêmes que dans la figure 3a.

Les figures 3a et 3b montrent des températures mesurées dans un four, pour des conditions à priori identiques, et en utilisant un dispositif de laboratoire. Mis à part au centre du produit, les enregistrements sont tout à fait différents. Ceci s'explique par les positions des sondes qui ont variées considérablement au cours de la cuisson du fait de la rétraction de la pièce de viande. Cet exemple illustre la difficulté à effectuer correctement des mesures pour valider les modèles.

## Evolution de la qualité du produit

La cuisson fait évoluer les qualités sensorielles des viandes et des produits carnés. Elle peut également être à l'origine de la modification de leur valeur nutritionnelle, et générer des composés considérés comme toxiques. Ce chapitre décrit l'évolution des qualités sensorielles, de la teneur en lipides et en vitamines des viandes ainsi que la formation de produits néoformés potentiellement cancérigènes. L'effet du chauffage et de la cuisson sur l'oxydation des protéines et des acides aminés, les réactions d'agrégation qui peuvent modifier leur digestibilité et le devenir des peptides bioactifs ne sont pas décrit ici car ils font l'objet d'une autre présentation.

## Evolution des qualités sensorielles et nutritionnelles

La cuisson fait évoluer la tendreté, la jutosité, la flaveur et la couleur du produit.

La jutosité est directement liée à la perte en jus au cours de la cuisson et sa perception est souvent associée à celle de la tendreté. L'effet de la cuisson sur la tendreté est lié à plusieurs facteurs : la dénaturation des myofibres, la contraction du collagène, sa solubilisation, la perte de poids de l'échantillon... L'effet dépend bien sûr de la nature de la viande crue : l'espèce de l'animal, sa race, son âge, son sexe, le type de muscle et les conditions de maturation (contraction au froid...). Il dépend aussi des conditions de cuisson. Les mesures mécaniques (Warner-Bratzler) montrent que la résistance de muscles de bœuf et de lapin est directement liée à la température de cuisson et à la perte de poids de l'échantillon. Elle augmente du produit cru vers le produit chauffé à 50°C, diminue ensuite entre 50°C et 55-60°C pour ré-augmenter au delà (Lepetit et al., 2000, Combes et al., 2003) . Le maximum de dureté est observé pour des températures comprises entre 77°C et 80°C et ne semble plus varier entre 80°C et 90°C. Jusqu'à 50°C, l'augmentation de dureté est interprétée comme étant liée à l'étirement des spirales du collagène du périmysium, qui seraient ensuite dénaturées entre 50°C et 55°C-60°C. L'augmentation de dureté ultérieure serait liée à l'interaction entre les fibres myofibrillaires et celles de collagène. Les mesures, qui ont été intégrées dans un modèle comportemental (Lepetit, 2007), découlent d'expériences effectuées en bain marie, à des températures inférieures à 90°C, et sur des temps supérieurs à 15 minutes. Elles sont donc difficilement transposables au grillage/poelage de steaks (McKenna et al., 2004) ou au rôtissage dans les fours où les conditions de temps/températures ont un effet significatif sur la tendreté (King et al., 2003).

Les réactions de Maillard induites par le chauffage des produits animaux sont à l'origine d'un grand nombre de composés dont certains sont des précurseurs de l'évolution de la couleur et de la flaveur du produit cuit (Larroche, 1988; Labuza *et al.*, 1994). Lorsqu' une viande est chauffée, l'évolution de sa couleur est d'abord liée à la dénaturation de la myoglobine, qui passe d'une couleur rouge sombre vers du rose puis vers une couleur grisâtre et enfin marron clair. Ces variations sont classiquement associées à des gammes de température respectivement égales à 60°C, 60-70°C et 70-80°C (Lawrie, 1985). C'est à partir de 85°C que se forment les composés de Maillard et les pigments mélanoïdes qui vont être associés à la couleur du produit grillé.

L'évolution de la flaveur est à la fois liée au développement des réactions de Maillard et à l'oxydation des composés lipidiques. D'un point de vue nutritionnel, les viandes sont en général considérées comme trop riche en acide gras saturés et présentées comme un facteur de risques de maladies cardiovasculaires. Pourtant, la teneur intramusculaire en lipides dans les viandes crues européennes est assez faible. Elle est en général comprise entre 1.5% et 4.0% pour les viandes de porc et de bœuf et peut atteindre 5-7% chez les animaux gras (Culioli, 2003). Les lipides intramusculaires peuvent être séparés en deux catégories : les phospholipides (ou lipides de structure) et les triglycérides (ou lipides de stockages) dont la teneur et la composition varient fortement d'un animal à l'autre. Il est possible de modifier le degré de saturation des acides gras au travers de l'alimentation particulièrement chez les monogastriques, l'effet étant atténué chez les ruminants. L'effet de la cuisson sur la concentration en lipides dépend de la méthode et de la durée. Lors d'une cuisson par immersion, 10% à 20% de la teneur initiale en lipides peut être transférés vers le jus de cuisson. (Culioli, 2003). Lors de cuissons plus courtes, la teneur en lipides reste constante lorsqu'elle est exprimée en % de matière sèche (Bauchart, 2004). Une synthèse de la formation des composés volatils associés aux réactions de Maillard a été effectuée par Mottram (1998). Les voies réactionnelles, qui sont complexes et ramifiées, aboutissent à des composés extrêmement divers. Les Pentoses, et en particulier le ribose (formé à partir de la dégradation des nucléotides) et les acides aminés soufrés, tels que la cystéine sont des composés importants quand à la formation

des composés cycliques détectés dans la fraction volatile de la viande cuite. Les aldéhydes et les carbonyls formés lors de l'oxydation des lipides réagissant avec des composés issus de la réaction de Maillard pour donner au produit son odeur cuite typique. La dégradation thermique des lipides est associée à une odeur de produit cuit spécifique de chaque espèce animale (bovins, ovins, caprins, porcins). La cuisson tend à promouvoir l'oxydation des lipides, qui est d'autant plus marquée que les acides gras sont insaturés. Pour la viande de bœuf, l'oxydation devient importante pour des températures supérieures à 100°C haute température et dépend très vraisemblablement de l'activité de l'eau. L'oxydation des lipides lors de la cuisson peut également aboutir à la formation de composés d'odeur indésirable lors de la conservation ultérieure du produit (St Angelo et al., 1988, 1992; Byrne et al., 2002). La friture peut changer la teneur et la composition en lipides des viandes (Pena, 1994; Saghir, 2005; Thurner, 2007, Haak et al., 2007). D'autre part, les pertes de la viande en lipides dues à la perte de jus sont faibles, en particulier en ce qui concerne les Acides gras polyinsaturés. Le profil lipidique de l'échantillon (lié à l'alimentation des animaux) est donc principalement affecté par la pénétration de l'huile de cuisson et non par la composition initiale de la viande. Des expériences effectuées avec du filet de porc (LT) montrent que, lors d'une friture plate, une part importante de l'huile peut imprégner la viande mais que les conditions sont très variables d'un essai à l'autre. La pénétration semble plus importante pour de l'huile d'olive comparée à de la margarine ou de l'huile alimentaire enrichie en lipides insaturés (Haak et al., 2007). L'effet d'une friture plate sur les composés d'oxydation du cholestérol (cholesterol oxidation products, COPs) montre que les COPs sont significativement plus importants dans les échantillons cuits par rapport aux échantillons crus et augmentent avec l'intensité de la cuisson et le type d'huile (Thurner et al., 2007); les COPs étant plus importants pour l'huile d'olive comparée à une huile végétale à base de graines.

Les viandes contiennent un certain nombre de micronutriments importants pour la santé humaine. A l'exception du foie, qui contient beaucoup de vitamine A, les viandes et produits carnés sont surtout riches en vitamines du groupe B. Les vitamines apportées par les viandes sont principalement les B1, B2, B3, B6 et B12. La vitamine B12 (adénosylcobalamine) qui n'est synthétisée naturellement que par les microorganismes est surtout présente chez les ruminants (en particulier au niveau du foie). 80% des besoins journaliers en vitamine B12 peuvent être couverts par une consommation normale de viande. La viande et en particulier la viande rouge contient aussi trois éléments traces : le fer, le zinc et le sélénium intéressants pour la santé humaine. Dans les viandes rouges le fer est surtout présent sous forme hèminique qui est 2.5 fois plus assimilable que le fer non hèminique en provenance des matières végétales. Il en est de même pour le sélénium, qui dans les produits végétaux existe essentiellement sous forme chélatée. Une consommation de viande de 100g par jour couvre environ 30% des besoins en fer et 70% des besoins en zinc et en sélénium (Chanson *et al.*, 2003). Les viandes contiennent également de la vitamine E, qui est importante du fait de son statut antioxydant et peut être systématiquement rajoutée dans l'alimentation animale (cas de la viande de porc).

Lors des traitements thermiques, la structure ou l'état de liaison de ces micronutriments peuvent être modifiés. Ils peuvent aussi être évacués avec le jus de cuisson, ce qui peut être massivement le cas pour le fer, le zinc et le sélénium. D'autre part, la liaison fer/hème peut être rompue par l'élévation de température, libérant ainsi du fer libre. Ce fer libre diminue la valeur nutritionnelle du produit (Culioli, 2003) et peut même être une source de radicaux libres à l'origine de processus d'oxydation et d'inflammation de l'intestin susceptibles à la longue d'entraîner la formation de tumeurs. Comme les vitamines B sont hydrosolubles, elles peuvent aussi être entrainées dans le jus de cuisson. Elles sont aussi thermosensibles, la niacine étant la plus thermorésistante (B3) et la thiamine (B1) la plus thermosensible. Pour un type de vitamine B donné, les pertes lors de la cuisson dépendent essentiellement du type de traitement : couple temps-températures et de l'humidité ambiante (cuisson « sèche » ou « humide »). De 20 à 50% de la teneur initiale en vitamines B peuvent être perdus au cours de l'opération de cuisson (Culioli, 2003). 15-20% de pertes supplémentaires ont été observées lors du réchauffage et du stockage de rôtis de porc dans les services de restauration en collectivité ou à domicile (Lassen et al., 2002). Une étude a été menée spécifiquement sur le devenir de la vitamine B12 au cours de la cuisson. Trois types de viandes de bœuf (respectivement entrecôte, rumsteck et paleron) ont été cuits à 55°C à cœur selon différents procédés traditionnels : grillage ou poelage pendant 1 minute, friture en bain d'huile à 170°C pendant 38 secondes, rôti au four à 240°C pendant 50 minutes ou braisé à 80°C pendant 2h15 (Ortigues-Marty et al., 2006). Les résultats montrent que les pertes en vitamines B12 étaient moins importantes que la perte de jus de cuisson et uniquement significatives dans le cas de la friture en bain d'huile (5% de pertes) ou de la cuisson braisée (25% de pertes). La vitamine E est liposoluble et est très peu entrainée par le jus de cuisson. Dans une étude récente (Bauchart, 2004), les pertes en vitamine E n'ont été décelées que lors des cuissons de viandes de bœuf les plus longues (rôtissage pendant 50 min à 240°C, immersion à 80°C pendant 2h15).

## Produits néoformés préjudiciables à la santé humaine

La cuisson peut être à l'origine de composés néoformés préjudiciables à la santé humaine. Dans les produits charcutiers, l'adjonction de nitrites ou de nitrates peut conduire à la formation de nitrosamines (potentiellement carcinogènes) in-vivo dans l'estomac (pH acide). Ce sont les nitrites qui sont potentiellement les plus toxiques. L'effet immédiat de la cuisson est de diminuer la quantité de nitrites en les transformant en nitrates (Honikel, 2008). A contrario, la cuisson tend à ralentir la diminution des nitrites au cours du stockage du fait de l'inactivation des microorganismes qui transforment les nitrites en nitrates. De plus, aux très hautes températures, des nitrosamines (nitrosopyrrolidine) peuvent se former directement dans les viandes nitritées. Cette réaction dépend de la présence d'amines secondaires et du fait que le pH ou la présence d'ions métalliques permettent la formation de NO+. Elle est en général limitée par la faible quantité de nitrites contenue dans le produit cru. La présence de nitrosamines a été détectée dans du bacon frit, des saucisses fermentées grillées, des produits charcutiers disposés en garniture de pizza. Les amides et les dérivés des lipides insaturés peuvent aussi réagir avec les nitrites en conduisant à des composés comme les alkylnitrites dont les concentrations exactes dans les viandes sont mal connues.

Quand le produit contient de la créatinine, ce qui est le cas pour la plupart des viandes, la réaction de Maillard peut conduire à la formation d'Amines Aromatiques Hétérocycliques (AAHs) dès que la température du produit est supérieure à 90-100°C (Skog, 1998). Il a été démontré que les AAHs avaient un pouvoir mutagène important et qu'il pouvaient être responsables de cancer du sein, de la prostate et du colon et même causer des dommages cardiaques (Gaubatz 1997; Skog, 1998; Felton, 2004). La vitesse de génération des AAHs qui augmente avec la température est très élevée lorsque celle-ci est comprise entre 150°C et 200°C, ce qui arrive fréquemment lors du grillage et du rôtissage des viandes. De faibles activités de l'eau tendent à promouvoir la génération des AAHs, tandis qu'un marinage préalable la diminue (Pais, 1999; Sinha, 1997). Il semble que l'augmentation de la teneur en lipide diminue la formation des AAHs (Hwang et Ngadi, 2002) de même que certains antioxydants comme la vitamine E (Balogh et al., 2000). Le vin, l'ail ou d'autres composés des marinades pourraient avoir un effet similaire (Bugsquet et al., 2006; Gibis, 2007). La présence de composés phénoliques dans l'huile de friture (Person et al., 2003) ou celle de composés d'oxydation lipidiques (Randel et al., 2007) seraient également susceptibles de diminuer les quantités de AAHs. Les AAHs sont principalement générées en surface du produit dans « la croûte ». La quantité obtenue dépend directement de la conduite du procédé de cuisson et du matériel utilisé. Mais ces éléments sont difficiles à déterminer précisément du fait de la difficulté à mesurer la température en surface du produit (Knize et al.1994, 1995; Mirkovic, 2000). Une diminution par 10 de la production d'AAHs a été obtenue en modifiant un procédé de friture et la nature de l'huile (Skog, 1998; Randel et al., 2007). Dans les études épidémiologique, la quantité d'AAHs produite est souvent reliée indirectement au degré de cuisson, lui même apprécié par la couleur de la viande cuite (Sinha et al., 1998, 1999, Rohrmann, 2001, 2002, 2007). Le jus de viande qui est soumis à des températures élevées et qui contient des peptides à chaine courte est souvent riche en AAHs (Skog et al., 1997). Des modèles cinétiques ont été développés dans des systèmes modèles (Murkovic, 2004), ou du jus de viande (Arvidsson et al., 1999) pour comprendre et prédire la génération des différents AAHs en fonction des couples temps-températures auxquels sont soumis les produits. Dans les systèmes modèles, il apparaît que des teneurs en sucre élevées ou l'ajout en excès de dérivés d'AA inhibent la formation d'AAHs tandis que l'augmentation de la teneur en créatinine a un effet inverse. Mais l'extrapolation de ces résultats vers les viandes reste sujette à discussions. Des travaux ont été effectués pour évaluer l'effet de la teneur en créatinine dans la viande porc sur la génération d'AAHs (Pfau, Resenvold et Young, 2006). Dans ce cas, aucun effet n'a été détecté. Bien que les viandes cuites et leurs jus soient des sources importantes d'AAHs, il reste toujours difficile d'estimer le degré d'exposition des consommateurs (Skog, 2002; Murkovic 2004). Il est donc indispensable d'analyser scientifiquement l'effet des conditions de cuisson sur la génération des amines dans des produits réels en fonction des habitudes des consommateurs (Alaejos, 2008).

La surface des produits carnés fumés peut contenir une forte quantité d'Hydrocarbones Polycycliques Aromatiques (HAP) contenus dans la fumée et potentiellement carcinogènes. Ces composés sont marqués principalement par la présence de Benzopyrène (BaP). Ils se rencontrent dans les viandes grillées ou fumées au barbecue à charbon, ou à bois. La quantité de BaP dans le produit dépend de la température de la fumée et du temps d'exposition. Il a donc tendance à se concentrer dans les viandes fortement cuites (Kazerouni *et al.*, 2001).

## Couplage entre phénomènes de transferts et qualité des viandes

Le chapitre précédent montre que le chauffage et la cuisson des produits animaux modifient profondément leur texture et leur confèrent des propriétés sensorielles (couleur, saveur, flaveur, tendreté, jutosité...) et nutritionnelles très spécifiques (variation de la teneur et de l'état des protéines, des lipides et des micronutriments). Si les grandes tendances qui décrivent l'évolution qualitative du produit au cours de la cuisson

sont connues, les résultats de la littérature restent très partiels et qualitatifs. Ils ne permettent en aucun cas de maitriser la conduite d'un procédé ou de prédire quantitativement l'effet d'un changement de la composition du produit et/ou des conditions opératoires sur l'évolution de la qualité ciblée. Cet état de fait a trois causes principales. Tout d'abord le fait qu'en pratique, transferts de chaleur-matière et réactions biochimiques sont intimement couplés. C'est-à-dire que les effets liés aux variations de forme, de dimension, de structure et de composition du produit interfèrent complètement avec les spécificités liés à l'appareil utilisé. Les conclusions sont donc le fruit d'un mélange indissociable, produit/appareil dépendants. Ensuite les résultats de la littérature sont le fruit d'observation entre deux états « le cru », et « le cuit », l'évolution intermédiaire restant inconnue. Enfin les résultats obtenus sont des moyennes mesurées sur un échantillon. Or, comme il a été montré dans le premier chapitre, les opérations de transformations induisent des modifications physiques et biochimiques qui sont très hétérogènes au sein d'un produit tel qu'une pièce de viande. Pour aller au-delà, seule une analyse décomposant : (1) les phénomènes de transferts de chaleur et de matière et leurs conséquences en terme d'hétérogénéité d'environnement réactionnel dans l'échantillon et (2) les cinétiques réactionnelles en relation avec cet environnement local, permet une compréhension générique du système. Cette approche rend alors possible, par le biais de la modélisation mathématique de chacun des phénomènes, puis de leur combinaison, une véritable optimisation des traitements de transformation relativement à une ou des propriétés cibles. Elle n'est que très rarement appliquée. Quelques travaux précurseurs ont toutefois été effectués, comme pour tenter de prédire la quantité d'AAHs générée lors du poelage d'une pièce de bœuf (Tran et al., 2002).

Cette approche de modélisation mécanistique et cinétique est actuellement suivie à l'INRA dans le laboratoire QuaPA. L'analyse des transferts de chaleur et de matière est abordée sur une matrice viande. Dans un premier travail (thèse CIFRE S. Oillic, INRA/ADIV), il s'agit de modéliser les transferts de surface au cours de la cuisson par convection, rayonnement ou contact (développement de la croûte) et avoir accès aux gradients de température lors de la déformation du produit. Un deuxième travail est focalisé sur le transfert de matière induit par les contraintes mécaniques engendrées lors de la cuisson d'une pièce de bœuf et sur la déformation du produit qui en résulte. Le découplage entre réactions et transferts nécessite de travailler sur un milieu modèle et de concevoir des dispositifs expérimentaux spécifiques pour contrôler les conditions micro-environnementales dans lesquelles se déroulent les réactions. L'essentiel du travail est effectué en couche fine et uniforme de produit solide, et non en milieu liquide, pour tenir compte des effets éventuels de la matrice. Des dispositifs de laboratoire ont été conçus puis construits pour traiter ces couches de produits et suivre l'avancée des réactions en imposant des paliers de température. Les modèles de transferts et les modèles cinétiques sont ensuite combinés pour prédire l'évolution des qualités sensorielles et toxico-nutritionnelles au cours de la cuisson des viandes. Ces recherches se déroulent principalement dans le cadre d'un projet Européen « Prosafebeef » et d'un projet ANR « lipivimus » (porté par l'Unité des Recherches sur les Herbivore de l'INRA), en collaboration avec d'autres unités de l'INRA et d'équipes nationales et internationales. Dans Prosafebeef, la modélisation de la température et la concentration en eau sert à prédire l'évolution de la couleur du produit, de sa jutosité et de sa tendreté. Ses propriétés organoleptiques sont mises en relation avec la prédiction de la génération d'Amines Aromatiques Hétérocycliques dans des viandes de bœuf. Dans Lipivimus, l'objectif scientifique des travaux menés sur la cuisson est de mieux comprendre l'évolution de l'oxydation des lipides dans une matrice viande chauffée et son effet sur le développement de la flaveur et de la couleur du produit cuit.

## Références

Alaejos M.S. Gonzalez V. Afonso A. M., 2008. Food Add. Cont., 25, 2-24.

Angelo A.J., Spanier A.M., Bett K.L., 1992, Lipid oxydation in food. Am. Chem. Soc., Washington DC.

Arvidson P., van Boekel M..A.J.S., Skog K., Solyakov A., Jägerstadt M., 1999. F. Sci., 64, 216-221.

Balogh Z., Gray J.I., Gomaa E.A., Booren A.M., 2000. Food Chem. Toxico., 38, 395-401.

Bauchart D., 2004, Rapport de fin de contrat Interbev -101p.

Busquets R., Puignou L., Galceran M.T., Skog K., 2006. J. Agri. Food Chem., 54, 8376-8384.

Byrne D.V., Bredie W.L.P., Mottram D.S., Martens M., 2002. Meat Sci. 61, 127-139.

Chanson A., Brachet P., Grolier P., and Rock E., 2003. Sci. Alim., 23, 47-55.

Chen S.S., Wright N.T., Humphrey J.D., 1997. Trans. A.S.M.E., 119, 372-373.

Combes, S., Lepetit, J., Darche, B., Lebas, F., 2003. Meat Sci., 66, 91-96.

Culioli J., Berri C., Mourot J., 2003. Sci. Alim., 23, 13-34.

Dagerskog M., 1979. L. W. T., 12, 217-224.

Felton J.S., Knize M.G., Wu R.W., Colvin M.E., Hatch T., Malfatti M.A., 2007. Mut. Res. Fund., 616, 90-94.

Gaubatz J.W., 1997. J. Nut. Bioch. 8, 490-496.

Gibis M., 2007. J. Agri. F. Chem., 55, 10240-10247.

Haak L., Sioen I., Raes K., Van Camp J., De Smet S., 2007. Food Chem., 102, 857-864.

Holtz E., Skjöldebrand C., 1986. J. Food Proc. Eng., 5, 109-121.

Huang E., Mittal G.S., 1995. J. Food Eng. 24, 87-100.

Hwang D.K., Ngadi M., 2002. L. W. T., 35, 600-606.

Ikediala J.N., Correia A., Fenton G.A., Ben-Abdallah N., 1996. J. Food Sci., 61, 796-802.

Kazerouni N., Sinha R., Hsu C.H., Greenberg A., Rothman N., 2001. Food Chem. Toxico., 39, 423-436.

King, D.A., Dikerman, M.E., Wheeler, T.L., Kastner, C.L., Koohmaraie, M., 2003. J. Anim. Sci, 81, 1473-1481.

Knize M.G., Cunningham P.L., Avila J.R., Jones A.L., Griffin A., Felton J.S., 1994. Food Chem. Toxico., 32, 55-60.

Labuza T.P., Reineccius G.A., Monnier V.M., O'Brien J., Baynes J.W., 1994. Roy. Soc. Chem., Cambridge.

Larroche M., 1982. L.W.T., 15, 131-134.

Larroche M., 1988. APRIA, INRA, Tec&Doc-Lavoisier, Paris.

Lassen A., Kall M., Hansen K., Ovesen L., 2002. Eur. Food Res. Tech., 215, 194-199.

Lawrie R.A., 1985, Meat Sci. Pergamon Press, Oxford.

Lepetit, J., Grajales, A., Favier, R., 2000. Meat Sci., 54, 239-250.

Lepetit, J., 2007. Meat Sci., 76, 147-149.

McKenna, D.R. et al., 2004. Meat Sci., 399-406.

Mottram D.S., 1998. Food Chem., 62, 415-424.

Murkovic M., Pfannhauser W., 2000. Fres. J. An. Chem., 366, 375-378.

Obuz E., Powell T.H., and Dikeman M.E., 2002. L.W.T., 35, 637-644.

Oroszvari B. K., 2004, The mechanisms controlling heat and mass transfer on frying of beefburgers, PhD Lund University of Technology (Sweden) -180p.

Ortigues-Marty I., Thomas E., Preveraud D.P., Girard C.L., Bauchart D., Durand D., Peyron A., 2006. Meat Sci., 73, 451-458.

Ou D., Mittal G.S., 2005. Food Res. Int., 39, 133-144.

Ou D., Mittal G.S., 2007. J. Food Eng., 80, 33-45.

Pan Z., Singh R.P., Rumsey T.R., 2000. J. Food Eng., 46, 9-19.

Pena G.M., Samperio M.A.Q., 1994. Revis. Clin. Espan., 194, 966-969.

Persson E., Graziani G., Ferracane R., Fogliano V., Skog K., 2003. Food Chem. Toxico., 41, 1587-1597.

Pfau W., Rosenvold K., Young J.F., 2006. Food Chem. Toxico., 44, 2086-2091.

Randel G., Balzer M., Grupe S., Drusch S., Kaina B., Platt K.L., Schwarz K., 2007. Food Chem. Toxico., 45, 2245-2253.

Rohrmann S., Zoller D., Hermann S., Linseisen J., 2007. Brit. J. Nut., 98, 1112-1115.

Saghir S., Wagner K.H., Elmadfa I., 2005. Meat Sci., 71, 440-445.

Shilton N., Mallikarjunan P., Sheridan P., 2002. J. Food Eng., 55, 217-222.

Singh N., Akins R.G., Erickson L.E., 1984. J. Food Proc. Eng., 7, 205-220.

Siripon K., Tansakul A., Mittal G.S., 2007. Food Res. Int., 40, 923-930.

Skjöldebrand C., Olsson C., 1980. L.W.T., 13, 148-151.

Skog K.I., Johansson M.A.E., Jägerstad M.I., 1998, Food Chem. Toxico., 36, 879-896.

Thurner K., Razzazi-Fazeli E., Wagner K.H., Elmadfa I., Luf W., 2007. Eur. Food Res. Tech., 224, 797-800.

## MISE EN ŒUVRE DES UNITES DE VENTE CONSOMMATEURS INDUSTRIELLES : CONTRAINTES TECHNOLOGIQUES ET SANITAIRES

## PICGIRARD L.

ADIV Association – 10 rue Jacqueline Auriol – 63039 Clermont-Ferrand cedex 2 – E-mail: laurent.picgirard@adiv.fr

#### Introduction

Les achats de viande de boucherie évoluent peu depuis 10 ans : 89,6 kg/an/hab. en 2007 contre 90,4 kg/an/hab. en 1997. Si la consommation de viande de veau (-5,3 % en 2007/2006) et de viande ovine (-4,2 % en 2007/2006) a chuté de manière plus importante, le report de consommation a profité aux viandes bovines (+2,6 % en 2007/2006) et porcines (+1,3 % en 2007) (Office de l'Élevage, 2008). Dans ce cadre, 73 et 75 % des achats des ménages de viandes bovines et porcines respectivement sont effectuées en grande surface.

Parallèlement, la profession de la boucherie connaît de profondes mutations : dévalorisation du métier, pénibilité du travail. Aussi, les rayons traditionnels, notamment ceux des supermarchés, disparaissent au fil des années pour faire place à des rayons libre service de viandes conditionnées produites par des industriels spécialisés : les UVCI. Cette évolution s'est accompagnée d'une modification de la distribution des produits pré-emballés. Les commandes des GMS préparées par les industriels sont regroupées sur plateforme avant d'être livrées au point de vente. Un allongement de la DLC des UVCI a donc été nécessaire, ce qui a conduit à l'abandon du conditionnement sous film. Ainsi, les ventes de viandes bovines piécées fraiches produites par les adhérents du SNIV représentaient 43 400 T en 2005 et ont progressé de +96 % par rapport à 2001 (SNIV, 2005). Cette part d'achats de produits élaborés pré-emballés croit d'année en année si bien que la production d'UVCI ne concerne plus seulement les gros groupes industriels mais aussi les PME qui vendaient traditionnellement des muscles entiers.

Deux technologies se sont aujourd'hui répandues pour pouvoir proposer des UVCI au rayon libre service avec des DLC suffisantes et ont remplacé les traditionnelles barquettes sous film produites en magasin :

- le conditionnement sous atmosphère
- le conditionnement sous vide.

Or, la transformation du métier de désosseur vers celui de fabricant de produits élaborés ne s'est pas réalisée de manière aisée. De même, pour les producteurs d'UVCI sous film, la demande de DLC supérieure par les distributeurs par l'emploi de l'atmosphère modifiée a conduit à des modifications de process sensibles. Des contraintes techniques, hygiéniques et économiques sont donc apparues suite à la mise en place des UVCI dans les entreprises. Cet article effectue une revue de ses contraintes après une description sommaire des packagings utilisables dans les entreprises.

## Les différents types de conditionnement

Deux grandes familles de conditionnement sont aujourd'hui disponibles pour la production d'UVCI : le conditionnement sous atmosphère modifiée et le conditionnement sous vide.

Le conditionnement sous atmosphère modifiée consiste en un remplacement de l'atmosphère ambiante par un mélange gazeux permettant de stabiliser la couleur et l'évolution microbiologique du produit conditionné. La nature du mélange gazeux employé dépend du circuit de distribution du produit et de la DLC envisagée. Ainsi, en France, deux familles de mélanges gazeux sont souvent utilisées : les mélanges composés d'environ de 70 % d'oxygène et de 30 % de CO<sub>2</sub> (pour ces mélanges, 10 % d'azote peuvent être ajoutés pour limiter le creusement des barquettes) et les mélanges gazeux sans oxygène composés de 50 % à 70 % d'azote et de 50 % à 30 % de CO<sub>2</sub> respectivement. Les mélanges gazeux avec oxygène sont plutôt réservés à des distributions en GMS. Les DLC sont de 10 à 12 jours pour les viandes piécées et de 6 à 7 jours pour les viandes hachées. L'oxygène permet de maintenir la myoglobine, le pigment responsable de la couleur de la viande, à l'état oxygéné rouge brillant tandis que le CO<sub>2</sub> permet de freiner le développement bactérien. La viande garde ainsi un aspect attractif pour le consommateur.

Les mélanges gazeux sans oxygène sont plutôt réservés aux circuits de distribution hors foyer: cantines, hôpitaux, restaurants. Le consommateur final ne voyant jamais la viande, il n'est pas nécessaire que celle-ci garde sa couleur rouge brillante. Elle a alors une teinte rouge sombre. Les DLC sont de l'ordre de 14 jours pour les viandes piécées et de 8 à 9 jours pour les viandes hachées.

Pour les deux familles de mélange gazeux, 2 technologies peuvent être employées :

- l'operculage qui consiste en la mise sous vide du conditionnement suivie d'une réinjection du mélange gazeux ;

 le balayage ou système « Flow Pack » qui consiste en un balayage de l'atmosphère ambiant par le mélange gazeux désiré. Le système BDF® de Sealed Air Cryovac est la seule application significative de cette technologie pour les viandes fraiches.

<u>Le conditionnement sous vide</u> consiste en une mise sous vide du produit dans un film barrière à un niveau de vide compris entre -3 et -5 mbar. Deux technologies sont utilisées : le vide sous cloche en sac 3 soudures ou en poche thermoformée et le skin qui consister à déformer par la chaleur le film supérieur du conditionnement et à l'appliquer sur la viande avec une force modérée : le film épouse alors parfaitement la viande comme une « peau » sans la déformer. Cette dernière technologie dont une variante est le procédé Darfresh® est réservée aux produits fragiles et/ou aux produits haut de gamme. En thermoformage sous vide, il est désormais possible d'utiliser des films rétractables. C'est le cas du procédé « Formshrink® » proposé par Multivac (Process, 2004).

En technologie vide classique ou skin, la viande privée d'oxygène a une couleur sombre et la myoglobine se trouve sous forme réduite désoxymyoglobine. Aussi, ces conditionnements sont-ils réservés soit à des circuits de distribution hors foyer pour le vide sous sachet ou thermoformé, soit au circuit GMS pour les viandes sous skin. Dans ce dernier cas ils doivent être suremballés par un étui carton ou un film de communication qui permet de masquer l'aspect sombre de la viande. Dans les 2 cas, les DLC permises pour les viandes piécées sont de l'ordre de 14 à 21 jours.

#### Couleur de la viande

Les 2 caractéristiques principales recherchées par le consommateur pour acheter des viandes piécées préemballées sont : la couleur (Renerre et Labadie, 1993) qui conditionne l'acte d'achat, et la tendreté qui détermine la fidélisation du client. En plus de ces qualités, le goût, l'exsudat, la stabilité des lipides sont des caractéristiques à prendre en compte même si elles sont secondaires. De ce fait, 2 notions de DLC peuvent être définies : la DLC commerciale, période durant laquelle le produit garde des caractéristiques organoleptiques satisfaisantes (aspect, goût, odeur) et la DLC microbiologique réglementaire. Or, il n'est pas rare de constater que les UVCI ont des couleurs instables avant que la fin de la DLC microbiologique soit atteinte.

La couleur de la viande est due à un pigment : la myoglobine. Celle-ci peut avoir 3 formes. La forme, rouge, brillante oxygénée, « oxymyoglobine » est dominante lorsque la pression partielle d'oxygène est supérieure à 13 %. La forme bordeaux, sombre, réduite, « désoxymyoglobine », domine lorsque la pression partielle d'oxygène est inférieure à 0,2 % et la forme oxydée de couleur verte, grise, « metmyoglobine » apparaît à des pressions partielles comprises entre 0,2 et 13 % sur les muscles à forte consommation d'oxygène et à pouvoir réducteur faible (Mc Millin, 2008). Dans ce cas, des viandes contenant 20 % de metmyoglobine, forme oxydée du pigment, sont détectées par les consommateurs (MacDougall, 1981) et sont rejetées si le niveau de metmyoglobine excède 40 % (Green, Hsia et Zipser, 1971). Lorsque la viande subit des altérations bactériennes, la couleur verte de la viande est due à la sulfomyoglobine (altération par du  $H_2S$  bacterien) ou à la forme cholémyoglobine (altération par  $H_2O_2$  bactérien).

<u>Au niveau du process</u>, la stabilité de la couleur des viandes conditionnées sous UVC va directement dépendre du type de mélange gazeux utilisé et notamment de la pression partielle en oxygène, du ratio gaz/produit, de la température, de l'intensité et de la nature de l'éclairage.

<u>Au niveau de la matière première</u>, le type de muscle et notamment son pH, son type respiratoire (oxydatif ou glycolytique) et sa réserve en NADH, système antioxydant naturel qui décroit après la mort de l'animal, va avoir également une influence directe sur la stabilité de la couleur du muscle (Mancini et Hunt, 2005).

A ce titre, l'alimentation de l'animal a un rôle direct sur la stabilité de la couleur des muscles en modifiant le potentiel anti-oxydant de la viande. Ainsi, Legrand et Renerre (1998) ont montré que la supplémentation de la ration de bovins en vitamine E améliorerait la stabilité de la couleur des viandes sous atmosphère avec oxygène. Selon Lynch et al. (2002), les faux filets et les entrecôtes de génisses finies à l'ensilage ou au concentré ont une couleur plus stable que leurs homologues finies à l'herbe. Cet effet est attribué au taux supérieur d'acide linolénique C18 :3 et à la teneur inférieure en tocophérol dans les graisses, étant entendu qu'oxydation lipidique et pigmentaire sont corrélées. Au niveau industriel, la maîtrise de l'alimentation des animaux est cependant difficile voire impossible à envisager.

<u>Enfin</u>, la croissance microbienne va également contribuer directement ou indirectement à l'instabilité de la couleur des viandes piécées.

## Conditionnement sous atmosphère avec oxygène

Le conditionnement sous atmosphère avec des taux d'oxygène de l'ordre de 70% à 80% est certainement la technologie le plus délicate à maîtriser et pour laquelle les phénomènes d'instabilité de couleur sont les plus fréquents.

**Au niveau microbiologique,** le taux d'oxygène est suffisant pour favoriser le développement des germes aerobies tels que *pseudomonas* ou anaérobies facultatifs tels que le *lactobacillus sakeï* (Ercolini et al., 2006).

De même, des études internes menées par l'ADIV ont montré que l'évolution microbiologique des viandes sous atmosphère se différencie de celle des viandes sous vide traitées dans des conditions identiques par une croissance inférieure de la flore totale, de la flore lactique et des enterobactéries mais par une croissance supérieure de pseudomonas et de brochothrix thermosphacta, germes réputés pour altérer la couleur des viandes. À ce titre, il semblerait qu'il y ait une optimisation quand au taux de CO<sub>2</sub> utilisable. Si des taux de CO<sub>2</sub> inférieurs à 15% ne freinent pas la croissance microbienne de manière satisfaisante, des niveaux supérieurs à 40% peuvent conduire à un creusement des barquettes dû à l'absorption du gaz par l'eau et les lipides de la viande. Enfin, des taux supérieurs à 50 – 60% n'apportent pas ou peu de gains microbiologiques (Mac Millin et al. 1999, Gill et Tam 1980).

**Au niveau technique,** si l'évolution des bactéries d'altération conditionne directement l'aspect des produits finis, le process l'influence aussi de manière significative. Ces facteurs technologiques concernent autant la matière 1<sup>ère</sup> que les paramètres du process.

Ces facteurs sont synthétisés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Facteurs influençant la stabilité de la couleur

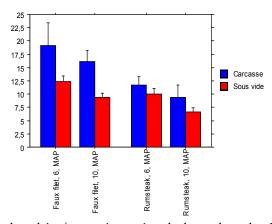
	,
Matière 1 <sup>ère</sup>	Process
<ul> <li>Nature des muscles</li> </ul>	<ul> <li>Température de tranchage et de stockage</li> </ul>
<ul> <li>Mode de maturation des viandes</li> </ul>	<ul> <li>Rapport gaz /produit</li> </ul>
<ul> <li>Durée et température de maturation</li> </ul>	<ul> <li>Délai de tranchage</li> </ul>
	<ul> <li>Mélange gazeux</li> </ul>

En ce qui concerne la matière 1 er les muscles présentent des stabilités pigmentaires différentes en fonction de leur type métabolique, c'est-à-dire de leur capacité à consommer l'oxygène, et de leur activité réductrice permise notamment grâce au système naturel NADH. Ainsi, les travaux de Renerre (1984) et de Mc Kenna et al (2005) ont montré sur le bœuf, que les muscles *longissimus dorsi* (entrecôte), *longissimus lumborum* (faux-filet), *obliquus externus abdominis* (bavette), *tensor fasciae latae* (aiguillette de rumsteak) et *semi tendinosus* (rond de gîte) étaient plutôt des muscles stables. Les muscles *semi membranosus* (tende de tranche) et *rectus femoris* (rond de tranche grasse) ont plutôt des stabilités intermédiaires alors que *psoas major* (filet), *gluteus medius*, *supraspinatus* (paleron), *triceps brachii* (macreuse) et *diaphragma medialis* (hampe) sont plutôt instables.

Concernant les facteurs de process, une étude en cours conduite par l'ADIV avec le concours financier d'Interbev et de l'Office de l'Élevage montre que le mode de maturation des muscles (carcasse, sous vide) et la durée de maturation ont une influence significative sur la stabilité de la couleur des UVCI. La sensibilité supérieure des rumsteaks par rapport au faux filet a également été démontrée. Enfin, la température de maturation semble être un facteur peu influant sur la stabilité de la couleur. La figure 1 ci-dessous montre qu'une maturation carcasse des muscles conduit à des acceptabilités visuelles supérieures des produits tranchés par rapport à une maturation sous vide notamment pour le faux-filet. Le temps de maturation idéal pour les muscles avant tranchage semble être de 6 jours maximum.

Figure 1 : Acceptabilité (en jours) d'UVCI en fonction des modes de maturation et du type de muscle (ADIV, 2008)

NB: L'acceptabilité a été mesurée par notation de l'aspect visuel sur plusieurs barquettes au fil de leur conservation



Au niveau industriel, pour éviter des altérations prématurées de la couleur des UVCI, les carcasses peuvent être désossées et les muscles tranchés 2 à 3 jours après abattage mais cette pratique ne permet pas d'optimiser la tendreté des

tranches conditionnées. D'une part, la durée de maturation des muscles est insuffisante et d'autre part, la maturation serait bloquée par la présence d'oxygène. Des travaux de Seyfert et al. (2005) ont montré l'effet néfaste du conditionnement sous atmosphère avec oxygène sur la tendreté de la viande de bœuf. Les mêmes constats ont été faits pour la viande de porc (Lund et al., 2007). La formation de liaisons protéiques issues du mécanisme d'oxydation seraient à l'origine du problème.

Au niveau des paramètres de conditionnement, l'utilisation des deux technologies de conditionnement sous atmosphère : le flow pack ou le vide /réinjection aboutissent à des résultats analogues. Dans les 2 cas, le volume de gaz doit être 1,5 à 2 fois supérieur à celui de la viande pour éviter le creusement des barquettes, sachant que le phénomène est quasi systématiquement évité lorsque le volume de gaz est 2 à 3 fois supérieur. Le creusement des barquettes dépend également de la forme des produits (rapport surface /volume), de leur température, du pH de la viande et du taux de CO<sub>2</sub> employé. Le CO<sub>2</sub> très soluble dans la viande (jusqu'à 1,8 L de CO<sub>2</sub> par kg de viande), pénètre d'autant plus que le taux utilisé est élevé, que la température est basse et que le pH de la viande est important. Malgré ces préconisations habituelles, une nouvelle technologie mise au point par Sealed Air, le Mirabella®, permet de garder une DLC de 10 à 12 jours des viandes piécées avec des volumes de gaz de 1 à 1,5 par rapport au volume de produit. Le procédé consiste à sceller 2 films sur la barquette : le premier, perméable à l'oxygène, touche la viande et le second imperméable est tendu à la surface de la barquette (RIA, 2007). L'intérêt du procédé est de permettre un maintien du produit, donc de l'exposer verticalement mais surtout de réduire le volume des barquettes et donc les coûts de transport des produits finis.

## Conditionnement sous atmosphère sans oxygène

Comme précisé précédemment, le conditionnement des UVCI sous atmosphère sans oxygène permet d'obtenir des DLC importantes, équivalentes à celles des produits sous vide. Leur évolution microbiologique est donc comparable. Le gain principal de cette technologie par rapport au conditionnement sous vide est essentiellement la quantité inférieure d'exsudat au cours de la conservation. Ainsi, des viandes tranchées conditionnées sous atmosphère avec un mélange  $50\% N_2 / 50\% CO_2$  perdent en moyenne 1% de jus après 14 jours de stockage alors que leurs homologues sous vide perdent 3,6% en moyenne (Picgirard, 2007).

Par contre, l'utilisation de cette technique peut conduire à des altérations marquées de la couleur des viandes conditionnées surtout lorsqu'il s'agit de viandes hachées. Sur ce produit, le phénomène peut apparaître en quelques heures et se traduit par un grisonnement irréversible du produit. Pour éviter la formation rapide de metmyoglobine responsable de l'altération, le taux d'oxygène résiduel doit être abaissé à une valeur suffisamment basse car des niveaux compris entre 0,15% et 2% prédisposent la viande au grisonnement (Mancini et Hunt, 2008). L'utilisation d'absorbeurs d'oxygène peut permettre de réduire l'apparition du phénomène. Ainsi, pour optimiser la couleur de la viande, des absorbeurs permettant d'abaisser le taux d'oxygène à 500 ppm en 0,7 h doivent être utilisés. D'autres sources préconisent une absorption de 1 à 1,5% d'O<sub>2</sub> par heure (Mc Millin, 2008). L'utilisation des absorbeurs a cependant des inconvénients. Pour une efficacité maximale, un flux de gaz libre doit entourer le sachet. Le coût de l'absorbeur n'est pas neutre. Enfin, la détection de corps étrangers métalliques est perturbée par la présence du sachet. La mise au point de films absorbeurs permettra peut-être d'améliorer l'efficacité des sachets actuels (Coma, 2008).

Concernant les facteurs de process, la stabilité des muscles utilisés a, comme le conditionnement enrichi en oxygène, un rôle important. Ainsi, le filet a une stabilité de couleur très faible sous un conditionnement sans oxygène comparativement au faux-filet. La durée et la température de stockage sous vide des muscles utilisés jouent aussi un rôle important. Ainsi, une conservation préalable d'entrecôtes entières, sous vide, durant 75 jours à – 1,5°C peut permettre de conserver une couleur satisfaisante des tranches sous atmosphère sans oxygène durant 14 jours à + 4°C contre 8 jours sous vide (Picgirard, 2007). Dans ces conditions, il semble préférable de trancher rapidement les viandes après déballage du sachet sous vide et d'éviter en amont un stockage des carcasses supérieures à 3 jours. La qualité microbiologique des muscles utilisés revêt une importance capitale pour limiter l'altération des UVCI ceci d'autant plus qu'ils sont stockés durant de longues périodes avant d'être tranchés.

Quant aux paramètres de conditionnement, les mêmes rapports gaz/produit que le conditionnement sous atmosphère avec oxygène doivent être employés. Par contre, l'utilisation de la technologie Flow Pack qui induit des taux d'oxygène résiduels importants doit être évitée. Au niveau microbiologique, l'évolution des UVCI sous atmosphère sans oxygène est comparable à celle des produits sous vide. La présence de faibles taux d'oxygène résiduels ne semble pas suffisante pour induire des croissances spécifiques de la flore d'altération de viandes piécées porcines (Jeremiah et al, 1992).

## Le conditionnement sous vide

Si le conditionnement sous vide en sachets est peu répandu pour les circuits GMS, le conditionnement sous skin et notamment la technologie Darfresh© (conditionnement sous skin de la viande dans une barquette thermoformée) est plus courante. Il apporte une réelle valeur ajoutée par une présentation plus attractive avec moins d'exsudat. L'évolution

microbiologique des produits conditionnés sous cette forme est comparable à celle de viandes conditionnées sous vide en sachets ou sous atmosphère sans oxygène. Ainsi, la croissance des *pseudomonas* ou de *brochothix* est freinée par rapport à un packaging riche en oxygène et cette inhibition sera d'autant plus précoce que le délai d'utilisation de la matière 1<sup>ère</sup> sera long. Les principaux avantages du conditionnement sous vide ou sous skin par rapport au conditionnement sous atmosphère sans oxygène sont la faible altération de la couleur, dans la mesure où la perméabilité à l'oxygène des films utilisés est suffisamment basse, et l'optimisation de la tendreté des viandes. Des verdissements peuvent toutefois se manifester principalement en périphérie du produit notamment si le muscle utilisé a été stocké durant une période importante avant tranchage et que la DLC envisagée pour l'UVCI est supérieure à 14 jours. Au niveau sensoriel, le conditionnement sous vide ou sous skin permet à la viande de poursuivre sa maturation ceci d'autant plus que leur DLC est importante. La tendreté des viandes est aussi optimisée. Par contre, le conditionnement sous vide conduit à une exsudation importante des viandes tranchées de l'ordre de 3%. Ce défaut peut être corrigé par l'utilisation de films rétractables qui permet de réduire cette exsudation de 30% à 50% ou par le recours au conditionnement sous skin qui l'abaisse de 66% à 80%.

Malgré tout, le conditionnement sous vide et plus particulièrement du skin se limite aux viandes piécées sans os. L'emploi de films renforcés ou des tissus tels que les « bone guards » ne peut être envisagé sur les viandes tranchées avec os sans nuire à la présentation du produit.

## Perspectives concernant le conditionnement des UVCI

Les problématiques d'avenir pour le conditionnement des UVCI consisteront à concilier tendreté et couleur des viandes, dans une optique globale d'environnement durable. Plusieurs pistes semblent envisageables : i) utilisation d'anti-oxydants, ii) utilisation de technologies combinées, iii) utilisation de monoxyde de carbone, iv) recours aux emballages actifs.

<u>L'utilisation d'anti-oxydants</u> ne peut, compte tenu de la réglementation, que s'appliquer aux préparations de viandes telles que les brochettes, viandes marinées, boulettes, burgers, ou aux produits à base de viande. En effet, dès qu'un ingrédient ou un additif est ajouté à une matière carnée, le terme viande ne peut plus être employé. Dans ce cas, pour pouvoir conserver l'appellation viande, seules des modifications de l'alimentation des animaux peuvent permettre d'améliorer la stabilité de la couleur des viandes. Pour les produits élaborés, aucun ingrédient naturel n'a aujourd'hui été identifié pour freiner l'oxydation pigmentaire. Des additifs tels que le lactate, l'acétate ou l'ascorbate ont par contre montré des effets intéressants même s'il existe des taux d'incorporation optimums.

<u>L'utilisation de technologies combinées</u> s'est déjà manifestée par le lancement de la technologie Bloom® de Sealed Air Cryovac (Viande Magazine, 2006). Cette technologie associe présentation du skin et couleur rouge de l'atmosphère modifiée. Il nécessite l'emploi de 2 films. Le film skin perméable à l'oxygène épouse le produit et permet l'oxygénation de surface de la viande. Le film d'operculage extérieur assure l'étanchéité globale du packaging et permet éventuellement d'intégrer une communication.

<u>L'utilisation du monoxyde de carbone</u> peut être une technologie intéressante pour concilier tendreté et couleur des viandes. Le CO, en s'associant à la myoglobine, forme un composé rouge stable : la carboxymyoglobine. Le monoxyde de carbone est généralement utilisé à un taux de 0,4% en association avec 20 à 30% de CO<sub>2</sub> et 70 à 80% d'azote. Cette technologie a été autorisée par la Food Drug Administration en 2004 alors que le Parlement Européen l'a interdit la même année. Si le monoxyde de carbone au taux de 0,5% est reconnu comme inoffensif pour le consommateur, il pose deux problèmes majeurs. La viande peut garder un aspect rouge alors qu'elle est contaminée par un taux important de germes pathogènes ou d'altération ce qui représente un danger pour le consommateur. Le gaz présente un danger pour les opérateurs qui le manipulent.

La principale source de progrès dans le domaine du conditionnement des viandes semble être le recours aux emballages actifs. En substitution des absorbeurs d'oxygène, des films absorbeurs seraient vraisemblablement plus faciles d'emploi. De tels films existent. Ils nécessitent une activation par la lumière UV ou la chaleur. Il semblerait toutefois que leur capacité d'absorption soit inférieure à celle des sachets (Coma, 2008). Parallèlement aux absorbeurs d'oxygène, des sachets émetteurs de substances bactériologiques ou bactéricides sont disponibles : génération de CO<sub>2</sub>, de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, de dioxyde de chlore. Des substances antimicrobiennes peuvent également être intégrées dans les films de conditionnement : métaux (argent), acides organiques (acide lactique, acide propionique), enzymes (glucose-oxydase), bactériocines (nisine, lacticine, pédiocine), ou huiles essentielles (Coma, 2008). Pour que des substances antimicrobiennes soient utilisables en Europe, elles ne doivent pas impacter la qualité du produit conditionné. En d'autres termes, la migration du composé dans l'aliment doit être accidentelle plutôt qu'intentionnelle. Ils sont considérés comme des biocides.

Enfin, la conception de nouvelles techniques de conditionnement doit prendre en compte les <u>contraintes</u> <u>environnementales</u>. Ainsi, si des efforts ont été faits depuis de nombreuses années pour réduire l'épaisseur et donc le

volume des films, il n'existe pas de matériaux biodégradables qui présentent des capacités barrières satisfaisantes. Ainsi, l'utilisation du PLA, matériau biodégradable le plus connu, ne peut s'appliquer qu'à la confection de barquettes destinées au conditionnement sous film ou alors au conditionnement flow Pack.

Un grand champ de progrès est donc envisageable pour le conditionnement des UVCI à moins que l'inexorable envolée du prix du pétrole ne conduise à revenir à des circuits de distribution plus courts, des DLC de produits moins longues et donc à l'emploi de matériaux moins techniques tels que le papier ou le carton.

## **Bibliographie**

Coma V., 2008. Meat Science (78) - p.90-103.

Ercolini D, Russo F., Torrieni E., Masi P. and Villani F., 2006. Applied and environnemental Microbiology 72(7) p 4363-4371.

Gattelier P, Beauchart D., Durand D. and Renerre M., 2004. 50th ICOMST, Helsinki

Gill CO and Tom K.H., 1980. Applied and environnemental microbiology (39) p 376-399.

Greene B.E., Hsin I-M, et Lipser M.W, 1971. Journal of food Science (36) p 940-942.

Jeremiah L.E. and al., 1992. Journal of muscle food (3) p.363-281.

Legrand I. and Renerre M.,1998. VPC 19(2) p 99 – 104.

Lund M.N et al., 2001. Meat Science (77) p 2095-303.

Lynch A. and al., 2002. Meat Science 61(3) p 227-232.

Mac Dougall D.B., 1982. Food chemistry (9) p 75-88.

Mc Kenna D.R. and al., 2005. Meat Science (70) p 665-682.

Mc Millin K. et al., 1999. Quality and shelf life of meat in case ready modified atmosphere packaging – Chapter 6 in Quality attributions of Muscle foods (p 73-93) – New York ACS Symposium Series, Plenum Publishing Corporation.

Mc. Millin KW., 2008. Meat Science - sous presse.

Mancini RA and Hunt M.C., 2005. Meat Science (71) p 100-101.

Office de l'Élevage – Février 2008 – Le marché des produits laitiers, carnés ou avicoles en 2007.

Picgirard et Renerre M., 2007. Compétitivité des viandes sous vide à longue DLC – Etude Interbev /Office de l'élevage - 95 pages.

Process, Décembre 2004. N°1210 p 54-56.

Renerre M., 1984. Science des Aliments (6) p 567-584.

Renerre M. and Labadie J., 1993. In proceedings 39<sup>th</sup> ICOMST (p 361-387) 1-6 August 1993, Calgary, Canada.

RIA, Mai 2007. N°679 p 55.

Seyfert M. and al., 2005. Journal of Animal Science (83) p 686-693.

SNIV, 2005. Les chiffres des adhérents du SNIV en 2005.

Taylor AA., 1985. Packaging fresh meat – Chapter 4 in R. Lawrie, Developments in meat science – vol 3 – p.89-113 – London: Elsevier Applied Science

Viandes Magazine, Juin 2006. N°14 – p.46-49.

## Communications orales Technologie et Valeur Nutritionnelle des Produits Carnés

## IMPACT DE LA NATURE DES ACIDES GRAS DANS L'ALIMENTATION DES PORCS SUR LA QUALITE DES PRODUITS DE CHARCUTERIE. PARTIE 1 : EFFET SUR LA QUALITE NUTRITIONNELLE

GUILLEVIC M.<sup>12</sup>, BLOCHET J.E.<sup>3</sup>, LE MINOUS A.E.<sup>4</sup>, ROBIN G.<sup>1</sup>, MOUROT J.<sup>1</sup> INRA, UMR 1079 SENAH, 35590 St-Gilles; <sup>2</sup> VALOREX SAS, 35210 Combourtillé; <sup>3</sup> ZOOPOLE développement, 22440 Ploufragan; <sup>4</sup> ADRIA développement, 29196 Quimper

#### Introduction

Les acides gras (AG) n-3 sont connus pour avoir un rôle bénéfique vis-à-vis de plusieurs pathologies chez l'homme notamment les maladies cardiovasculaires. D'après diverses enquêtes nutritionnelles, la consommation française de ces AG est estimée à 800 mg. Or, selon la dernière édition des apports nutritionnels conseillés (ANC, 2001), l'AFSSA recommande une ingestion quotidienne de 2 g du précurseur de la famille (C18:3 n-3) et 120 mg de C22:6 n-3. Pour atteindre ces apports dans l'alimentation humaine, l'utilisation du vecteur animal est une stratégie à considérer. Le porc est la viande la plus consommée en France et en Europe et constitue un bon modèle de la « relation acides gras ingérés – acides gras déposés ». Le but de cette étude est d'estimer la qualité nutritionnelle, sous l'aspect lipide, de différents produits de charcuteries qui ont été réalisés à partir de porcs nourris par un régime riche en AG n-3.

#### Matériels et méthodes

Trentre porcs ([Large-WhiteX Landrace] X Piétrain) sont répartis en trois lots (n=10). Les animaux ont reçu entre 50 kg et 105 kg, un régime isoprotéique, isoénergétique et isolipidique ou seule la source en matière grasse différait d'un régime à un autre. Le régime standard était composé d'huile de palme, le régime tournesol d'huile de tournesol et le régime lin de graines de lin extrudées (Valoméga®, Valorex, Combourtillé). Les aliments étaient supplémentés en vitamine E et en sélénium à une dose respective de 40 et de 0,25 mg/kg. A l'abattage, les pièces nécessaires à la fabrication des produits de charcuterie étaient prélevées (chaudin, épaule, foie, gorge, gras de mouille, gras de bardière, jambon, longe, poitrine) et livrées aux salaisonniers qui réalisaient, selon leurs procédures industrielles habituelles, les différents produits. L'extraction des lipides était effectuée selon la méthode de Folch (1957) et la composition en acides gras analysée en chromatographie en phase gazeuse après dérivation en esters méthyliques selon Morrison et Smith (1964).

## Résultats et discussions

Seules les données des lots standard et lin seront présentées dans cette étude.

Les animaux ne présentaient pas de différence en terme de performances de croissance (P=0,36); le rapport ingéré / gain de croît (P=0,12) non plus. Les teneurs en lipides (tableau 1) des différents produits de charcuterie ne sont pas modifiées pour l'ensemble des produits à l'exception de la saucisse (P<0,05).

La composition des différentes familles d'acides gras est modifiée de manière significative dans les produits de charcuterie (tableau 2). La famille d'acides gras saturés (AGS) est diminuée significativement pour l'andouille (P<0,05), le pâté de campagne (P<0,05), la poitrine (P<0,001) et la saucisse (P<0,01). Une tendance (P<0,10) à la baisse est observée pour le jambon cuit, la mousse de foie et les saucisses knack. Les acides gras monoinsaturés (AGM) sont diminués significativement pour l'andouille (P<0,001), la poitrine (P<0,001) et la saucisse (P<0,05).

**Tableau 1**. Teneur (%) en lipides de différents produits de charcuterie.

products de charente.		
	Standard	Lin
Andouille	18,3	17,3
Jambon blanc	3,5	3,4
Jambon sec	13,8	12,4
Mousse de foie	29,7	29,8
Pâté de campagne	34,4	31,6
Pâté en conserve	30,6	29,7
Poitrine	19,9	20,1
Rôti de porc	8,7	8,4
Saucisse	19,8 <sup>a</sup>	16,9 <sup>b</sup>
Saucisse knack	26,4	27,0
Saucisson à l'ail	19,1	19,1
Saucisson sec	28,3	25,7

Les moyennes affectées d'une lettre différente sont significativement différentes au seuil de probabilité P<0,05

Enfin, les acides gras polyinsaturés (AGPI) sont augmentés pour l'ensemble des produits à l'exception du rôti de porc (P>0,10). Ces variations sont connues chez l'animal. Le régime lin est riche en AGPI (19 contre 11 g par kg) et apporte moins d'AGS (4 contre 10 g par kg) que le régime standard. Cela se retrouve dans la viande de porc. La baisse des AGM est expliquée par l'action des AG n-3 sur l'activité de l'enzyme Δ9 en faisant diminuer le C18:1 n-9. Ces variations des familles d'AG, déjà visible au sein des différentes pièces anatomiques, demeurent après transformations des différents tissus en produits de charcuterie.

L'apport du précurseur des AG n-3 dans l'alimentation du porc permet un dépôt des ces AG d'intérêts au sein des tissus. La fabrication de produits de charcuterie avec ces mêmes tissus pourrait toutefois altérer la composition en acides gras et générer des phénomènes de péroxydation. Les produits de charcuteries issus des porcs nourris au lin présentent une augmentation des AG n-3 totaux (tableau 3).

Tableau 2. Effet du régime lin sur la composition des familles d'acides gras de différents produits de charcuterie (les

résultats sont exprimés en mg pour 100 g de produit).

	AG sa	aturés	AG monoinsaturés		AG polyinsaturés	
	Standard	Lin	Standard	Lin	Standard	Lin
Andouille	7344	5640*	5400	5053***	959	1459***
Jambon blanc	1010	952 <sup>†</sup>	1315	1191	399	535*
Jambon sec	4219	3657	5653	4834	1679	2126*
Mousse de foie	10595	10242 <sup>†</sup>	10946	10600	3654	4656*
Pâté de campagne	12856	10982*	14034	13090	4712	5543*
Pâté en conserve	10165	9669	12134	10680	4128	5603***
Poitrine	5578	5371***	6885	6528***	2544	3349**
Rôti de porc	2900	2964	3587	3317	1073	1113
Saucisse	6533	5304**	8106	6652*	2700	3428**
Saucisse knack	9233	8644 <sup>†</sup>	10274	10609	3825	5081***
Saucisson à l'ail	6701	6779	7680	7578	2342	3106**
Saucisson sec	9306	8899	10133	9465	3179	4659**

P<0.001 = \*\*\*; P<0.01 = \*\*; P<0.05 = \*; P<0.10 = †

Cette augmentation est significative pour le précurseur C18:3 n-3 (de 3,1 à 7,9 fois) ainsi que ses dérivés C20:5 n-3 (1,5 à 6,8 fois) et C22:5 n-3 (1,3 à 2,9 fois). Le C22:6 n-3 est ici augmenté dans le cas de la saucisse et de la saucisse knack mais de manière minoritaire (+ 3,9 à +4,7 mg). Cette augmentation s'explique par un niveau de DHA supérieur (+0,04% et +0,01%) en pourcentage d'acides gras totaux identifiés et une teneur en lipide différente. Enfin, les matières premières telles que la gorge sont actuellement peu caractérisées en termes de composition en AG.

Tableau 3. Effet du régime lin sur la composition en acides gras n-3 de différents produits de charcuterie (les résultats

sont exprimés en mg pour 100g de produit).

	C18:	C18:3 n-3		C20:5 n-3		C22:5 n-3		5 n-3
	Standard	Lin	Standard	Lin	Standard	Lin	Standard	Lin
Andouille	45	275***	9,4	17,5**	20,1	47,8***	7,6	12,3
Jambon blanc	18	99***	1,8	7,7***	4,5	10,4***	2,3	2,8
Jambon sec	98	544***	3,0	19,5***	14,5	28,2**	4,8	10,0
Mousse de foie	188	1146***	8,9	50,4***	31,4	67,3***	24,1	20,2
Pâté de campagne	246	1333***	30,8	56,0***	37,9	78,3***	20,2	21,9
Pâté en conserve	220	1487***	13,2	51,2***	27,8	66,0***	17,0	12,9
Poitrine	119	935***	5,5	23,3***	14,6	39,8***	4,3	9,3
Rôti de porc	51	260**	2,8	10,9***	8,3	16,6***	4,2	4,0
Saucisse	151	936***	3,5	19,3***	18,1	39,6***	9,8	14,5***
Saucisse knack	184	1371***	3,0	20,3***	18,9	55,3***	6,7	10,6***
Saucisson à l'ail	124	781***	5,2	16,6***	14,2	38,2***	6,8	6,8
Saucisson sec	190	1322***	4,3	25,3***	23,0	57,1***	6,6	7,2

P<0.001 = \*\*\*; P<0.01 = \*\*; P<0.05 = \*; P<0.10 = †

## Conclusions

L'on peut voir, au travers de ces résultats, qu'il est possible d'augmenter la qualité nutritionnelle des produits de charcuterie en modifiant les sources de lipide entrant dans la ration alimentaire. Ainsi la mise à disposition de ces produits permettrait de couvrir jusqu'à 74 % des ANC par la consommation de 100 g de ces produits. Toutefois, dans le cadre d'une alimentation équilibrée, il n'est pas recommandé ni recommandable de consommer 100 g de tous ces produits (en particulier les pâtés et saucissons). L'utilisation d'antioxydants en plus forte quantité ou bien d'origine végétale dans l'alimentation animale, pourrait permettre d'avoir une meilleure conservation de ces AG d'intérêts pour répondre aux mieux aux recommandations de l'AFFSA. Des travaux sont maintenant à mener dans ce sens.

## Références Bibliographiques

ANC, Apports Nutritionnels Conseillés pour la population française, 2001. AFSSA, Ed. Tec & Doc, Paris. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G.H., J. Biol. Chem., 233 (1957), 311-320. Morrison W. R., Smith L. M., J. Lipid Res., 5 (1964), 600-608.

## Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier les entreprises de la salaisonnerie (Andouilles de Fouesnant, Aoste, Cooperl, Henaff, Lycée la Lande du Breil, Ranou, Salaison du Jet, l'Uzelaise) qui ont bien voulu participer à cette étude en réalisant les fabrications des différents produits.

## UN APPORT D'ANTIOXYDANTS ALIMENTAIRES CHEZ LE BOVIN EN FINITION PEUT PREVENIR LA LIPOPEROXYDATION DES VIANDES, Y COMPRIS CHEZ DES ANIMAUX SUBISSANT UN STRESS AVANT L'ABATTAGE

# GOBERT M. $^1$ , BOURGUET C. $^2$ , TERLOUW C. $^2$ , DEISS V. $^2$ , PARAFITA-THOMAS E. $^3$ , BAUCHART D. $^1$ , DURAND D. $^1$

<sup>1</sup> Equipe Nutriments Et Métabolismes, <sup>2</sup> Equipe Adaptation et Comportements Sociaux, UR 1213 Herbivores INRA de Theix, 63122 St-Genès-Champanelle, France <sup>3</sup> ADIV, Association pour le Développement Industriel des Viandes, 63000 Clermont-Ferrand, France

#### Introduction

Dans le but d'améliorer la qualité nutritionnelle des viandes de ruminant, les rations sont enrichies en lipides riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) au cours de la période de finition. Cependant, ces apports peuvent favoriser la lipoperoxydation tant pendant la vie de l'animal que dans les viandes produites (Gladine et al., 2007). Les processus de lipoperoxydation génèrent non seulement des métabolites terminaux détériorant les qualités organoleptiques (par rancissement) et nutritionnelles (par perte d'AGPI) des viandes, mais également des métabolites potentiellement toxiques pour le consommateur tels que les aldéhydes ou les produits d'oxydation du cholestérol (hydroxystérol, époxydes, kétocholestérol). La consommation de ces substances a été associée à l'initiation de pathologies sévères pour l'homme, notamment de l'athérosclérose, démontrée sur des modèles animaux (Du et al. 2001). D'autres situations peuvent également générer un stress oxydant, et notamment des réactions de stress en phase de pré-abattage (Chirase et al., 2004). Enfin, il est admis que certains procédés de conditionnement des viandes favorisaient largement la lipoperoxydation, en particulier le conditionnement sous film perméable ou sous atmosphère modifiée (Jacobsen & Bertelsen, 2000; Gobert et al, 2008). Des antioxydants apportés dans l'alimentation peuvent limiter la lipoperoxydation des viandes. Nous avons déjà montré qu'un apport combiné de vitamine E (vit E) lipophile associé à des extraits végétaux riches en polyphénols (EVRP) hydrophiles permet de protéger les viandes riches en AGPI n-3, même dans les conditionnements les plus défavorables tels que le sous atmosphère modifiée (Gobert et al., 2008). Dans la présente étude, nous avons testé si ces différentes sources d'antioxydants, ajoutés à l'alimentation au cours de la période de finition, limitent la lipoperoxydation dans des viandes issues des vaches ayant subi un stress émotionnel et physique juste avant leur abattage.

## Matériel et Méthodes

Animaux et traitements. Notre étude a porté sur 16 vaches de réforme de race Normande (4-5 ans, 642 kg de poids vif) au cours d'une période de finition de 100 jours. Les animaux, répartis en 4 lots, ont reçu des rations à base d'aliment concentré et de paille (70/30) supplémentée i) avec des graines de lin extrudées (4% de lipides/kg MS d'aliment) (L, n=8), ii) avec des graines de lin, de la vitamine E (vit E, 155 UI/Kg MS) et des extraits végétaux riches en polyphénols (EVRP) provenant de romarin, d'agrumes, de raisin et de tagette (7 g/kg MS) (LEP, n=8). En fin de période d'engraissement, 4 animaux des lots L et LEP ont été abattus en condition de stress "minimisé" (témoins) réalisé par un court trajet (5 min) jusqu'à l'abattoir et en présence d'un congénère dans la bétaillère (L, n=4; LEP, n=4). Les autres animaux ont été soumis à un stress physique et émotionnel consistant en un transport en bétaillère, isolés des congénères, durant 15 min, suivi de 30 min de parcours physique forcé par des hommes "brusques", puis à nouveau 15 min de transport juste avant l'abattage (LS, n=4; LEPS, n=4).

**Transformations des viandes.** Les muscles *Longissimus thoracis* (LT) et *Semitendinosus* (ST) ont été collectés à l'abattage, maturés sous vide pendant 12 jours en chambre froide (+4°C), puis découpés en steaks comme réalisé dans le commerce. Les différents steaks ont été conservés à +4°C; des échantillons ont été conservés en barquettes à +4°C soit sous film (SF) pendant 4 jours, soit sous-atmosphère modifiée (SA) (70:30, O<sub>2</sub>/CO<sub>2)</sub> pendant 7 jours, soit sous-vide (SV) pendant 14 jours.

Mesures effectuées. L'effet du stress a été évalué par la mesure de l'augmentation du taux de cortisol plasmatique au moment de la saignée par rapport au taux basal en fin de période de finition. L'intensité de la lipoperoxydation des viandes a été évaluée par la mesure de la teneur en malondialdéhyde (MDA) de la viande séparée par HPLC et détectée par fluorimétrie selon la méthode d'Agarwal & Chase (2002).

#### Résultats et Discussion.

Le taux de cortisol plasmatique a été 1,7 fois supérieur chez les animaux du traitement « stress » (P<0.05) par rapport aux témoins, atteignant en moyenne 84.3 ng/mL de plasma. Le stress appliqué à nos vaches semble modéré par rapport à celui obtenu par isolement et contention chez des veaux (x3.5, Apple et al., 2005) et celui qu'on observe lors de certains abattages industriels.

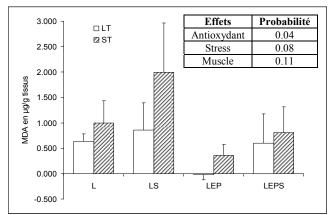
Concernant l'effet du conditionnement, les viandes SA (Fig. 1a) ont présenté des teneurs en MDA 2 fois supérieures à celles des viandes SF (2,96 vs 1,41  $\mu$ g/g tissu, P<0,05) (Fig. 1b), alors que les viandes SV présentaient des taux relativement faibles (0,19 à 0,30  $\mu$ g/g tissu) comparables aux viandes maturées 12 jours et avant conditionnement (0,15 à 0,34  $\mu$ g/g tissu). Cet effet délétère important du conditionnement SF et surtout du conditionnement SA est en partie lié

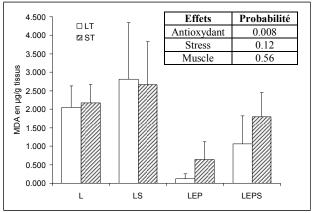
à la concentration élevée en oxygène de l'atmosphère en contact avec la viande, cette forte concentration en oxygène étant cependant nécessaire pour stabiliser la couleur de la viande (Jeremiah, 2001).

Concernant l'effet du stress pré abattage, seulement une tendance (P=0.08) à l'augmentation de la lipoperoxydation est observée pour les viandes SF, cette augmentation étant plus marquée dans le muscle ST que dans le muscle LT. Les mêmes tendances sont notées pour la conservation SA, celle-ci étant cependant plus faible en intensité que pour la conservation SF. Ces résultats indiquent que le niveau de stress subi lors de certains abattages industriels pourrait avoir un effet très marqué sur la lipoperoxydation des viandes.

Comme nous l'avions déjà montré au niveau du muscle ST (Gobert et al., 2008), l'apport d'antioxydants par voie orale au cours de la période de finition permet de maîtriser les processus de lipoperoxydation y compris au niveau du LT même dans les conditionnements les plus défavorables (SA). Nos mesures biochimiques (MDA) sont en bon accord avec les mesures physiques d'oxydation des pigments de la viande tels que l'indice de rouge ou le pourcentage de metmyoglobine (Parafita-Thomas et al., 2008). Cette protection par nos antioxydants n'est pas suffisamment efficace pour prévenir complètement les effets délétères du stress (LEPS > LEP) au cours du conditionnement SA. Cependant celle-ci permet de maintenir un niveau de lipoperoxydation acceptable pour le consommateur (estimé à 2,2  $\mu$ g/g tissus par la mesure des TBARS (Campo et al., 2006) correspondant à une concentration d'environ 1  $\mu$ g/g de MDA) dans les viandes SF, les concentrations en MDA ne dépassant pas 1  $\mu$ g/g de tissus.

**Figure 1** : Effet des antioxydants (L vs LEP) et du stress pré-abattage (L vs LS) sur les teneurs en malondialdéhyde des viandes conditionnées :





a) Evolution des taux de MDA entre le conditionnement SV et le conditionnement SF

b) Evolution des taux de MDA entre le conditionnement SV et le conditionnement SA

## **Conclusions**

Notre étude montre, pour la première fois, qu'un apport raisonné en antioxydants aux propriétés à la fois lipophile et hydrophile permet de maîtriser les processus de lipoperoxydation dans les viandes enrichies en AGPI, y compris celles conservées avec des conditionnements très délétères (7 jours sous atmosphère enrichie en O<sub>2</sub>). Cependant, lorsque l'on amplifie la lipoperoxydation par un stress pré abattage, ces processus sont moins bien maîtrisés, bien que l'on reste à des niveaux acceptables chez des animaux recevant des rations fortement enrichies en vitamine E et en EVRP. Ces résultats montrent l'intérêt de l'apport d'antioxydants dans l'alimentation et l'importance de limiter le stress avant l'abattage pour préserver les qualités nutritionnelles des viandes.

## Références

Agarwal R. and S. D. Chase. 2002. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 775:121-6.

Apple J.K., Kegley E. B., Galloway D. L., Wistuba T. J. and Rakes L.K. 2005. J. Anim. Sci. 83: 1202-1214.

Campo M.M., Nute G.R., Hughes S.I., Enser M., Wood J.D., Richardson R.I. 2006. Meat Sci. 72: 303-311

Chirase N.K., Greene W., Purdy C.W. 2004. Am. J. Veterinary Res. 65: 860-864.

Du M., Nam K.C., Ahn D.U. 2001. J.Food Sci. 66: 1396-1401.

Gladine C., Morand C., Rock E., Bauchart D., Durand. D. 2007. Accepté dans J. Ani. Sci.

Gobert M., Martin B., Ferlay A., Chilliard Y., Graulet B., Pradel P., Bauchart D., Durand D. 2008. Proc. Nutr. Soc. 67(OCE). E165. Gobert M., Bauchart D., Parafita-Thomas E., Jailler R., Durand D. 2008. Communication au 54<sup>ème</sup> ICoMST. Afrique du Sud. Jacobsen M. and Bertelsen G. 2000. Meat Sci. 54: 49-57.

Jeremiah L.E. 2001. Food Res. Inter. 34: 749-772.

Linares M.B., Berruga M.I., Bornez R., Vergara H. 2007. Meat Sci. 76: 715-720.

## Remerciements

Nous remercions J-C. Bonnefoy, P. Faure et l'équipe de l'Installation Expérimentale de l'INRA de Theix pour la conduite des animaux ; R. Jailler et l'équipe de l'Abattoir Expérimental (INRA Theix) pour les abattages des animaux et la maturation des viandes, ainsi que la société PHYTOSYNTHESE (Riom 63) pour la mise au point et la fourniture du mélange d'extraits végétaux riches en polyphénols.

# IMPACT DU PH ULTIME SUR LES QUALITES TECHNOLOGIQUES, BACTERIOLOGIQUES ET GUSTATIVES DES FILETS DE POULET

# GIGAUD V.<sup>1</sup>, BORDEAU T.<sup>2</sup>, LE BIHAN-DUVAL E.<sup>2</sup>, BERRI C.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ITAVI, 37380 Nouzilly; <sup>2</sup>INRA, UR83 Recherches Avicoles, 37380 Nouzilly

#### Introduction

Actuellement, on observe une forte variabilité de qualité technologique des filets de poulet (Gigaud et al., 2006). Cette variabilité est préjudiciable aux consommateurs et aux abatteurs-transformateurs dont l'objectif est de commercialiser des produit de qualité maîtrisée et optimale. Comme pour la viande de porc, le pH ultime (pHu) est un facteur clef qui va influencer à la fois la couleur, le pouvoir de rétention en eau, la texture et plus généralement l'aptitude à la transformation des viandes de volaille. Contrairement au Porc, les valeurs de pHu critiques pour la qualité ne sont pas connues chez les volailles. Cette étude avait pour objectif de définir les valeurs optimales de pH ultime et de caractériser les viandes dites « à problème » soit acides ou à pHu élevé (de type Dark Firm Dry ou DFD) afin notamment d'orienter les filets de volaille vers les meilleures voies de commercialisation (découpe, transformation...).

#### Matériel et Méthodes

<u>Echantillonnage</u>: Cette étude a été réalisée sur 1320 filets de poulet standard, provenant de 6 lots d'un abattoir industriel français. Trois lots ont été étudiés au printemps et 3 autres lots à l'automne 2007. Les lots provenaient de plusieurs groupements de production avec des conduites d'élevage, des alimentations et des souches de poulet différentes. Pour chaque essai, 220 filets ont été sélectionnés et classés selon leur valeur de pH ultime (Classe 1 : pHu  $\leq$  5,7 ; Classe 2 : 5,7 > pHu  $\leq$  5,9 ; Classe 3 : 5,9 > pHu  $\leq$  6,2 ; Classe 4 : pHu  $\geq$  6,2).

<u>Mesures de qualité de viande</u>: Sur l'ensemble des filets (muscle *Pectoralis major*), des mesures de pH ultime et de couleur (luminance L\*, indices de rouge et de jaune a\* et b\*) ont été réalisées à 24h *post mortem*. De plus, sur 30 filets par classe et par lot, les pertes en eau à la cuisson et la résistance aux cisaillements ont été mesurées.

<u>Mesures bactériologiques</u>: À 2, 6 et 9 jours après l'abattage, la flore d'altération a été quantifiée sur 15 filets mis sous film par classe et par lot. Cette quantification a été réalisée par comptage visuel des *pseudomonas* après incubation 72 h sur une Gélose CFC (Cétrimide, Fucidine et Céphaloridine).

<u>Analyses sensorielles</u>: Pour chaque séance d'analyse sensorielle (6 au total), 10 jurys entraînés ont testé chacun 4 filets correspondant aux 4 classes de pH. Les filets ont été distribués crus et emballés pour juger la couleur (notée 1, 2 ou 3 pour blanc, rose et rouge, respectivement) et son intensité notée 1 ou 2 pour pâle ou sombre, respectivement. Après déballage, l'odeur de volaille des filets a été évaluée (faible : 1 ou forte : 2). Après cuisson dans un four traditionnel à 200°C pendant 15 minutes, le goût de volaille (faible : 1 ou fort : 2), la jutosité (non juteux : 1, juteux : 2, très juteux : 3), la tendreté (pas tendre : 1, tendre : 2, très tendre : 3) et la fibrosité (peu : 1, fibreux : 2, très fibreux : 3) ont été notés.

<u>Analyses statistiques</u>: L'analyse descriptive a été réalisée avec la procédure UNIVARIATE et l'analyse des corrélations entre critères de qualité avec la procédure CORR du logiciel SAS. Les analyses de variance (ANOVA) ont été réalisées avec la procédure GLM pour évaluer l'impact de la classe de pHu sur la couleur, les pertes à la cuisson, la dureté, et la qualité microbiologique des filets. Dans le cas où les différences entre classe de pHu étaient significatives, un test de Scheffe a été réalisé. Les analyses sensorielles ont été analysées par le test non paramétrique de Kruskal-Wallis suivi du test de Mann et Whitney en cas de différence significative (logiciel StatView).

#### Résultats

Qualité technologique: Cette étude nous a permis de confirmer la variabilité de qualité déjà observée lors de précédentes études (Gigaud et al., 2006). Nous avons en effet observé sur l'ensemble de la population étudiée un pHu moyen de 5,90 avec un écart-type de 0,22. Une variabilité importante a aussi été observée pour les autres paramètres de qualité, notamment la luminance L\* avec un écart-type élevé de 3,56, l'indice de rouge a\* (0,97) et de jaune b\* (1,87). Cette étude a en outre permis de confirmer en conditions industrielles les fortes corrélations négatives entre pHu et luminance (-0.75) déjà observées en conditions expérimentales (Berri et al., 2007; Le Bihan-Duval et al., 2008). Les données relatives aux caractéristiques de qualité en fonction de la classe de pHu sont présentées dans le Tableau 1. Il existe un effet significatif de la classe de pHu sur tous les paramètres de qualité étudiés. Les filets ayant un pHu élevé sont caractérisés par une couleur foncée, des pertes en eau à la cuisson et une résistance au cisaillement faibles. A l'opposé, les viandes les plus acides présentent une couleur pâle, des pertes en eau à la cuisson et une résistance aux cisaillements élevées.

<u>Qualité bactériologique</u>: Cette étude a permis de vérifier l'impact du pHu sur la flore d'altération des viandes. En effet, il est admis que plus le pH est élevé plus les risques de contamination des viandes sont forts. Nos résultats montrent une multiplication des *pseudomonas* au cours du temps, avec un nombre de colonies formées significativement plus élevé à

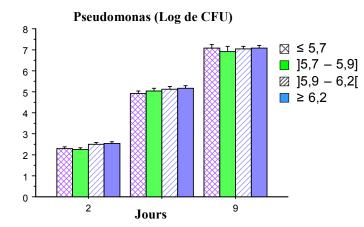
9 jours post-mortem qu'à 2 jours (Figure 1). En revanche, nous n'observons pas de différence significative entre les classes de pHu quel que soit le délai de conservation.

**Tableau 1 :** Caractéristiques technologiques des filets de poulet en fonction de la classe de pH ultime (moyenne ± écart type)

	Classes de pHu				
	≤5,7	<b>]5,7 – 5,9]</b>	<b>]5,9 – 6,2</b> [	≥6,2	P
n	148	179	180	95	
pHu	5,63	5,82	6,02	6,26	***
Luminance L*	$52,6 \pm 2,2^{a}$	$49,85 \pm 2,42^{\text{ b}}$	$47,29 \pm 2,71^{\text{ c}}$	$45,12 \pm 2,36$ d	***
Indice de rouge a*	$-0.71 \pm 0.89$ b	$-0.22\pm0.85$ a	$-0.18 \pm 1.02$ a	$-0.81 \pm 0.97$ b	***
Indice de jaune b*	$6,55 \pm 1,90^{\text{ a}}$	$6.04 \pm 1.89^{a}$	$5,72 \pm 1,95$ b	$6,46 \pm 1,36$ ab	*
Perte à la cuisson (%)	$14.7 \pm 1.9^{a}$	$13,56 \pm 1,69^{b}$	$12,48 \pm 1,78c$	$11,13 \pm 1,74^{d}$	***
Résistance aux cisaillements (N)	$25,98 \pm 10,03^{a}$	$21,44 \pm 8,56^{b}$	$19,93 \pm 6,85$ °	$16,76 \pm 6,66$ d	***

a-d Les moyennes avec des lettres différentes sur la même ligne sont significativement différentes ( $P \le 0.05$ ).

<sup>\*</sup>  $P \le 0.05$ , \*\*  $P \le 0.01$ , \*\*\* $P \le 0.001$ .



**Figure 1 :** Effet de la classe de pHu (Classe 1:  $5.7 \le pHu$ ; Classe  $2:5,7 > pHu \le 5,9$ ; Classe  $3:5,9 > pHu \le 6,2$ ; Classe  $4:pHu \ge 6,2$ ) sur la flore d'altération (*pseudomonas*) au cours du temps.

<u>Analyses sensorielles</u>: Les résultats de l'analyse sensorielle étaient généralement concordants avec les mesures objectives de qualité. Le jury a mis en évidence des différences significatives entre les classes de pHu pour les critères de couleur, de goût, et de tendreté des viandes. Les viandes acides sont perçues comme des viandes blanches, pâles, dures avec un arrière gout d'acidité, tandis que les viandes appartenant à la classe de pHu le plus élevé ( $\geq 6,2$ ) ont été décrites comme des viandes sombres, tendres et sans arrière goût. Aucun effet significatif n'a été reporté pour les critères d'odeur et de jutosité, même si les fîlets de la classe 4 (pHu  $\geq 6,2$ ) avaient tendance à développer une odeur plus prononcée et à présenter une texture plus sèche.

### Conclusion

Cette étude a permis d'évaluer en conditions industrielles l'impact des variations de pH ultime sur les différentes caractéristiques de qualité des filets découpés de poulet. Ces variations affectent non seulement le potentiel technologique mais aussi les caractéristiques gustatives des filets avec semble t'il peu d'effet sur leur qualité bactériologique. Selon ces résultats, la plage optimale de pH ultime pour le filet de poulet serait comprise entre 5,7 et 6,2. En deçà de cette valeur, les viandes présentent des caractéristiques de viandes acides, à savoir une couleur pâle, un faible pouvoir de rétention en eau et une dureté importante après cuisson. Au-delà, les filets présentent certaines caractéristiques des viandes de type DFD, en particulier une couleur sombre et une tendance à être plus secs. Notre étude a aussi permis de confirmer la forte hétérogénéité entre, mais aussi, au sein d'un même lot, soulignant la nécessité de développer des stratégies ou des outils pour homogénéiser la qualité des produits. A court terme des systèmes de tri en ligne peuvent être mis au point afin d'orienter les produits sur des marchés adaptés. A plus long terme, des stratégies génétique ou d'élevage doivent aussi être envisagées afin d'optimiser en amont les caractéristiques des produits.

### Références

Berri C., Le Bihan-Duval E., Debut M., Santé-Lhoutellier V., Baéza E.; Gigaud V., Jégo Y., Duclos M.J. (2007) Consequence of muscle hypertrophy on characteristics of Pectoralis major muscle and breast meat quality of broiler chickens. J. Anim. Sci., 85: 2005-2011.

Gigaud V., Debut M., Berri C., Le Bihan-Duval E., Travel A., Bordeau T. (2006) Influence des facteurs ante-mortem sur la qualité technologique des filets de poulet de type standard et label. VPC, 11èmes Journées Sciences du muscle et technologies des viandes; Clermont-Ferrand (FRA); 2006/10/04-05, numéro hors série; 213-214.

Le Bihan-Duval E., Debut M., Berri C., Sellier N., Santé-Lhoutellier V., Jégo Y., Beaumont C. (2008). Chicken meat quality: genetic variability and relationship with growth and muscle characteristics. BMC Genetics (in press).

# EMPREINTE PEPTIDIQUE DE LA FRACTION PROTEIQUE SOLUBLE DU JAMBON DE BAYONNE

THERON L.<sup>1</sup>, ROBERT N.<sup>2</sup>, DUTERTRE C.<sup>2</sup>, BERDAGUE JL.<sup>1</sup>, SANTE-LHOUTELLIER V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UR 370 Qualité des Produits Animaux, INRA, 63122 Saint-Genès Champanelle <sup>2</sup> Pyragena, Route de Samadet, 64410 Arzacq

#### Introduction

L'amélioration de la qualité du jambon de Bayonne, qui bénéficie d'une Indication Géographique Protégée, est une préoccupation constante du Consortium du jambon de Bayonne, notamment en ce qui concerne la texture. La texture est la résultante des caractéristiques texturales, de l'action d'enzymes protéolytiques, de la matière première et du temps de fabrication. L'objectif de ce travail est d'étudier l'évolution de l'empreinte peptidique de la fraction protéique soluble au cours du temps de fabrication. L'empreinte peptidique est obtenue par la méthode Protein LabChip Agilent qui permet la séparation des protéines selon leur poids moléculaire et d'acquérir des informations qualitatives et quantitatives plus rapidement que par des méthodes d'électrophorèse.

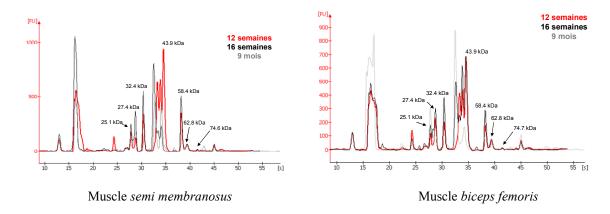
#### Matériels et méthode

Les jambons expérimentaux sont rigoureusement conformes au cahier des charges IGP (Robert *et al.*, 2005). Les temps de fabrication étudiés sont : 12 semaines, en fin de repos ; 16 semaines, en cours de séchage ; 9 mois en fin d'affinage. La fraction protéique soluble est extraite à partir des muscles *semi membranosus* et *biceps femoris* broyés au préalable dans de l'azote liquide. L'extraction est réalisée dans un tampon à faible force ionique : KCl 50 mM, Tris 20 mM, MgCl<sub>2</sub> 4 mM, EDTA 2 mM ; pH 7, méthode adaptée de Fritz et Greaser, 1991. Elle est suivie d'une centrifugation à 10000g à 6°C pendant 10 minutes. Le surnageant, qui correspond à la fraction soluble, est collecté avant un traitement dénaturant au sodium dodecyl sulfate. Les empreintes peptidiques sont obtenues avec le système 2100 Bioanalyser Agilent et le kit Protein 80 Plus LabChip qui permet la séparation des protéines d'une gamme de poids moléculaire de 5 à 80 kDa. La détection est basée sur la fluorescence induite par le colorant en interaction avec le complexe SDS-protéines. Les molécules fluorescences s'intercalent dans les protéines et ces complexes sont détectés selon le principe d'émission de fluorescence. Les petits fragments migrent plus vite que les plus grands.

#### Résultats et discussion

Le logiciel permet de récupérer les données sous la forme d'un électrophoregramme – ou empreinte peptidique - (figure 1) pour chaque échantillon avec un tableau regroupant pour chaque pic : le poids moléculaire, le temps de rétention, les concentrations absolues et relatives. L'analyse des résultats comporte plusieurs étapes : l'élimination des pics sous-représentés et mal définis, le choix de la zone d'analyse et la numérotation des pics. La comparaison des pics présents aux différents temps et dans les deux muscles étudiés a permis la numérotation de ceux-ci dans la zone de 17 à 75 kDa. Cette zone a été choisie en fonction de la représentation et de la définition des pics par rapport au bruit de fond et regroupe au total 25 pics.

Figure 1: Electrophoregrammes ou empreintes peptidiques



L'analyse de l'ensemble des profils électrophorétiques révèle un certain nombre de similitudes mais également des différences d'évolution au cours du temps de fabrication des jambons ou selon le muscle considéré. Ainsi, certains pics sont communs à tous les profils, quels que soient le muscle ou le temps de fabrication. Il s'agit des pics de poids moléculaire : 25.1 kDa, 27.4 kDa, 32.4 kDa, 43.9 kDa, 58.4 kDa, 62.8 kDa et 74.7 kDa (figure 1). Bien que ces pics soient présents dans tous les profils, leur concentration peut varier en fonction du muscle ou du temps de fabrication.

Au cours du processus de fabrication du jambon sec, la fraction myofibrillaire subit une protéolyse intense qui conduit à la libération de fragments. Ce phénomène, couplé à la solubilisation des protéines myofibrillaires ou des complexes protéiques par l'action du sel, conduit à l'apparition de fragments myofibrillaires dans la fraction soluble à faible force ionique (Di Luccia et al., 2005). Les empreintes peptidiques du muscle biceps femoris révèlent l'apparition d'un pic de poids moléculaire de 35.5 kDa en fin d'affinage et dans le muscle semi membranosus une faible détection est possible dès la fin du séchage. Le pic de poids moléculaire de 39 kDa apparaît au cours du processus de fabrication uniquement dans le muscle biceps femoris, il a ainsi pu être détecté dans les mesures effectuées à 16 semaines et à 9 mois. Dans notre cas, l'absence de ces pics dans les profils électrophorétiques de 12 semaines semble indiquer qu'il ne peut s'agir que d'une accumulation de produits de la protéolyse. Néanmoins, l'absence de données sur la viande fraîche ne nous permet pas de conclure de façon certaine sur ce point. En conséquence, il convient de dire que lors du séchage et de l'affinage, il se produit, dans les deux muscles, une accumulation de produits de poids moléculaire de 35.5 kDa et de 39 kDa.

La discrimination des profils électrophorétiques de chaque muscle en fonction de pics précis n'est possible qu'en fin d'affinage (tableau 1). Ainsi, une analyse factorielle discriminante réalisée sur l'ensemble des pics permet de classer 92.5% des empreintes protéiques des muscles *semi membranosus* et *biceps femoris* en fonction de 4 pics de poids moléculaire de 23.4 kDa, 32.4 kDa, 62.8 kDa et 74.7 kDa.

	Pics discriminant (poids moléculaire)					
	23,4 kDa 32,4 kDa 62,8 kl					
biceps femoris	-	+	-	-		
semi membranosus	+	-	+	+		

**Tableau 1 :** Pics discriminant les muscles *semi membranosus* et *biceps femoris* en fin d'affinage, à 9 mois (+ : concentration élevée ; - : concentration faible).

La différence de localisation des muscles *semi membranosus* et *biceps femoris* dans le jambon explique les résultats obtenus (Monin *et al.*, 1997). En effet, le muscle *biceps femoris* se trouve plus en profondeur dans le jambon que le muscle *semi membranosus*. Le salage se fait au contact du muscle *semi membranosus*, alors que le muscle *biceps femoris* est localisé sous le gras et la couenne : les transferts d'eau et de sel prennent donc plus de temps que dans le muscle *semi membranosus* et donc leur influence sur l'ampleur de la protéolyse est plus tardive. En effet, l'action des enzymes est modulée par les paramètres physico-chimiques tels que l'activité de l'eau et la teneur en sel.

#### Conclusion

La méthode de séparation des protéines LabChip Agilent a permis de mettre en évidence la protéolyse dans les muscles *biceps femoris* et *semi membranosus*, de définir quels pics sont présents dans le jambon quelles que soient les conditions étudiées et de caractériser les muscles en fonction de la concentration en certains pics. L'empreinte peptidique du jambon dans les premières étapes de fabrication permettrait de mieux comprendre les phénomènes de protéolyse. De plus, cette technique pourrait s'inscrire dans une démarche qualité d'authentification grâce à la définition de pics discriminant un muscle ou un stade de fabrication.

#### Références bibliographiques

Robert N., Basly S., Dutertre C., 2005. VPC, 24 (6), 201-204.

Fritz J., Greaser M., 1991. J. Food Sci. 56 (3): 607-610.

Di Luccia A., Picariello G., Cacace G., Scaloni, A., Faccia, M., Liuzzi, V., Alviti, G., Spagna Musso, S., 2005. Meat Sci., 69, 479-491.

Monin G., Marinova P., Talmant A., Martin J.F., Cornet M., Lanore D., Grasso F., 1997. Meat Sci., 47 (1-2), 29-47.

#### Remerciements

Ce projet a bénéficié d'un financement de l'Office National de l'Elevage (2006 – 2008).

# STABILISATION DE FILETS DE THON CRU *ALBACORE* PAR CONDITIONNEMENT SOUS VIDE ET TRAITEMENT HAUTES PRESSIONS

# SIMONIN S., GUYON C., COMBEAUX N., CORREA C., COUTANT L., PARMENTIER S., de LAMBALLERIE M.

## GEPEA/ENITIAA, BP 82225, 44322 NANTES cedex 3, France

marie.de-lamballerie@enitiaa-nantes.fr

#### Introduction

Depuis quelques années, la consommation de produits frais ou semi-préparés, faciles à cuisiner et se conservant plus d'une semaine, ne cesse d'augmenter. Dans ce contexte, un des enjeux importants pour les industriels de l'agroalimentaire est de développer des produits innovants aux qualités sensorielles et sanitaires irréprochables. Les traitements hautes pressions peuvent apporter une solution pour augmenter la durée de vie des produits avec un ajout minimal d'additifs.

Le traitement d'aliments par Hautes Pressions isostatique a été développé comme un procédé de conservation se substituant au traitement thermique. Ce procédé peut en effet améliorer la qualité du produit et augmenter sa durée de vie par inactivation des micro-organismes et ou d'enzymes sans détruire les vitamines et les microéléments (Rastogi *et al.*, 2007).

Le poisson frais est un aliment sensible dont la qualité se détériore seulement après quelques jours de stockage. L'évolution des qualités sensorielles au cours du stockage est essentiellement due au développement de la flore indigène du poisson. Elle se traduit par le développement d'odeurs fortes, la modification de la texture et de la couleur du produit (Bremer, 2002). Dans certains cas, l'innocuité du produit est compromise par le développement d'une flore pathogène et la production par les microorganismes d'amines biogènes.

Le traitement de produits de la mer par hautes pressions dans le but d'augmenter leur durée de vie a beaucoup été étudié depuis une vingtaine d'années (Oshima *et al.*, 1993) et les travaux montrent que l'effet de ce procédé sur la qualité globale des produits de la mer varie beaucoup d'un produit à l'autre.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de traitements hautes pressions de 250 à 500 MPa sur l'évolution de la qualité de filets de thon conditionnés sous vide. Nous nous sommes intéressés à la flore totale, au taux d'oxydation des lipides et aux paramètres de texture et de couleur.

#### Matériel et Méthodes

Des filets de thon *albacore* crus d'environ 150 g sont découpés et conditionnés sous vide dans des sachets en plastique résistants aux hautes pressions. Puis, ils sont traités par hautes pressions pendant 5 minutes à 100, 250 et 400 MPa. Les filets traités et non traités sont analysés au cours du stockage à 4 °C le jour du traitement et 7 et 14 jours après le traitement.

Le dénombrement de la flore totale est réalisé par ensemencement de broyat de poisson dilué dans l'eau peptonée sur des milieux PCA. Le nombre d'unité formant colonies (UFC) est compté après 48h d'incubation à 30°C.

L'état d'oxydation des produits est évalué par le dosage des produits secondaires de l'oxydation des lipides par la méthode TBA (Acide Thiobarbiturique). La couleur de la surface des produits est mesurée par un colorimètre et les valeurs des paramètres L\* a\* b\* sont moyennées à partir de 3 points. Enfin, un appareil de traction-compression uniaxiale est utilisé pour enregistrer les profils de texture en trois points des filets.

#### Résultats et discussion

Les filets contenaient au début des expériences entre 4 et 5 log de microorganismes par gramme. Les traitements hautes pressions ont permis de diminuer cette flore initiale d'un log pour un traitement à 250 MPa à 1,5 log pour un traitement à 400 MPa. Durant les 14 jours de stockage, une augmentation de la flore totale de 4 à 5 log est observée pour les échantillons témoins. Seuls les traitements hautes pressions réalisés à 400 MPa ont permis de limiter la flore totale à  $10^7$  UFC/g.

Les résultats obtenus montrent également que les traitements hautes pressions ont un effet non négligeable sur les qualités sensorielles des filets de thon crus. A partir d'une pression de 250 MPa, une couleur légèrement jaune apparaît ; b\* augmente de  $0,22\pm0,14$  pour les filets témoin non pressurisés à  $0,40\pm0,17$  après un traitement à 250MPa, donnant un aspect cuit au poisson cru. Les hautes pressions ont donc un effet sur la couleur de la chair du poisson : plus la pression utilisée est forte, plus la clarté du poisson augmente et plus la teinte

jaune apparaît. Cette modification de couleur est due à la fois à la dénaturation de la myoglobine et à celle d'autres protéines, telles que les protéines myofibrillaires (Frederighi *et al.*, 2001).

Concernant la texture, les profils de texture montrent que la fermeté des filets augmente significativement lorsque la valeur de la pression augmente mais aucun effet n'est mesuré sur la cohésion des filets. Ceci peut également être attribué à la dénaturation des protéines myofibrillaires, et pourrait se révéler positif puisque la texture des filets de poisson a tendance a diminuer excessivement lors du stockage à l'état réfrigéré.

L'oxydation des lipides dans le poisson est une des premières causes de diminution des qualités organoleptiques du poisson frais. En effet, cela procure une odeur et un goût rance prononcé au poisson. L'oxydation des aliments conduit également à une altération de leurs propriétés nutritionnelles. Dans le cas du poisson, les acides gras essentiels peuvent être altérés. La littérature donne des avis controversés quant à l'effet des hautes pressions sur l'oxydation des lipides (Cheah et Ledward, 1997; Ramirez-Suarez et Morissez, 2006).

Dans nos expériences, l'influence des hautes pressions sur l'oxydation des lipides n'a pas pu être démontrée et nous pouvons considérer que cette influence est négligeable. La concentration en produits secondaires de l'oxydation des lipides tend cependant à croître avec le temps de stockage à 4°C et ce indépendamment du traitement. Elle est comprise entre 2 et 7 mg équivalent malonaldéhyde (MDA)/kg à J0 et atteint des valeurs comprises entre 5 et 12 mg équivalent MDA/kg après 14 jours de stockage.

#### Conclusion

Cette étude montre que la qualité microbiologique de filets de thon crus est améliorée seulement pour des traitements hautes pressions drastiques (5 minutes à 400 MPa). Cependant, ce niveau de pression a un effet important sur les qualités organoleptiques, couleur et texture, des filets de poisson cru.

Un traitement par hautes pressions seul ne suffit donc pas pour stabiliser des filets de thon frais pendant 14 jours de stockage. Ce procédé devrait être associé à d'autres techniques de stabilisation telles que l'utilisation d'additifs ou le conditionnement sous atmosphère contrôlée.

Bremer H.A., 2002. – Safety and quality issues in fish processing. – Cambridge, Woodhead Publishing Limited, 507p.

Cheah P.B., Ledward D.A., 1997. Journal of food science, 62, 6, 1135-1141.

Federighi M., Tholozan J.L., 2001. -Traitements ionisants et Hautes pressions des Aliments.- Paris : Polytechnica, 256p.

Ohshima T., Ushio H., Koizukmi C., 1993. Trends in food science and technology, 4, 370-375.

Ramirez-Suarez J.C, Morrisey M.T., 2006. Innovative food science & emerging technologies, 7, 1-2, 19-27.

Rastogi N.K., Raghavarao K.S.M.S.; Balasubramaniam V.M.; K. Niranjan; D. Knorr, 2007. Critical reviews in food science and nutrition, 47, 69-112.

# Posters

Technologie et Valeur Nutritionnelle des Produits Carnés

# EFFET DES ACIDES GRAS N-3 DE L'ALIMENT SUR LE DEVELOPPEMENT DES ADIPOCYTES INTRA-MUSCULAIRES ET SUR LA COMPOSITION EN ACIDES GRAS DES LIPIDES POLAIRES ET NEUTRES DU MUSCLE DE PORC.

# AVEZARD C.1, GUILLEVIC M. 2, GARIEPY C.1, MOUROT J. 2

<sup>1</sup>Centre de R&D sur les Aliments, Agriculture et Agroalimentaire Canada (AAC), Saint-Hyacinthe, Qc, Canada

<sup>2</sup>INRA, UMR 1079 Systèmes d'Elevage Nutrition Animale et Humaine, 35590 Saint-Gilles, France

#### Introduction

La nature des lipides de l'aliment donné aux animaux d'élevage influence la qualité des acides gras qui seront déposés dans leur viande (Wood et al, 2008). Ceci est particulièrement vrai chez les animaux monogastriques (Mourot et Hermier, 2001). Il est donc possible d'orienter la qualité nutritionnelle de la viande en apportant à l'animal des aliments contenant des acides gras d'intérêt, c'est-à-dire jugés bons pour la santé humaine.

Des études récentes se sont intéressées aux apports d'acides gras n-3 dans l'aliment via l'incorporation des graines de lin. La teneur en n-3 est augmentée dans la viande d'une manière générale aussi bien au niveau du muscle que des tissus adipeux visibles (Guillevic et al, 2007, Corino et al, 2008). Le précurseur des acides gras n-3, le C18:3 n-3, acide  $\alpha$ -linoléique, est stocké dans les tissus et il peut subir des élongations et des désaturations pour aboutir à des acides gras à plus longue chaîne. Il est alors converti en dérivés n-3 tels que l'acide eicosapentaénoïque (EPA, 20:5 n-3) et l'acide docosahexaénoïque (DHA, 22:6 n-3) (Legrand, 2005). Mais cette conversion est très faible chez l'animal et chez l'homme.

Concernant les adipocytes intramusculaires, peu d'études ont été réalisées relativement à leur développement et à leur nombre au sein du muscle. La race influence la taille et le nombre (Hauser et al, 1997) qui sont plus élevés chez le porc gras que chez le porc maigre.

Mais qu'en est-il de l'effet d'un apport en acides gras n-3 sur le devenir des adipocytes intra-musculaires ?

C'est l'objectif de cette étude qui a cherché à connaître l'effet de régimes apportant des quantités variables d'acides gras n-3 ou n-6 sur le développement des adipocytes intra-musculaires et sur la répartition et la composition en acides gras des lipides stockés dans les adipocytes (lipides neutres, essentiellement sous forme de triglycérides) et ceux constitutifs des membranes des cellules (lipides polaires, constitués de phospholipides).

#### Matériel et méthodes

<u>Les animaux et les régimes</u>: 24 porcs mâles castrés ont reçu des régimes isolipidiques et isoénergétiques contenant soit de l'huile de palme, soit de l'huile de tournesol (source de C18:2 n-6), soit des graines de lin extrudées (source de C18:3 n-3, Valoméga®, Valorex, Combourtillé, France). Pour les régimes palme, tournesol et graines de lin, la teneur en C18:2 n-6 était respectivement de 8,1; 14,0 et 9,3 g /kg d'aliment et celle en C18:3 n-3 de 0,62; 0,68 et 6,28 g/kg d'aliment. La période de distribution a été de 50 à 105 kg de poids vif.

<u>Les dosages</u>. A l'abattage des échantillons de muscle *longissmus dorsi* ont été prélevés. Pour le dosage des lipides, les échantillons ont été congelés à -20°C avant analyse. Les lipides ont été extraits à froid selon la technique de Folch puis séparés sur colonne de silice SEP-PAK pour obtenir les fractions de lipides polaires et neutres (Sebedio et al, 1985). Les acides gras ont été identifiés par analyse CPG après dérivation au BF3 méthanol (Morrison et Smith 1964).

Pour la mesure de la taille des adipocytes, des bâtonnets de muscles de  $0.5~\rm cm~x~1~cm$  de longueur suivant l'axe des fibres ont été congelés dans l'isopentane refroidi dans l'azote liquide avant d'être entreposés à  $-80^{\circ}C$ . 3 coupes sériées de  $10~\mu m$  (espacées de  $20~\mu m$ , permettant de sélectionner l'adipocyte dans sa plus grande taille) ont été réalisées à  $-20^{\circ}C$  à l'aide d'un cryostat et colorées au rouge à l'huile selon la méthode de Dubowitz (1985). Les adipocytes ainsi colorés, isolés ou en faisceaux, ont été observés et photographiés à l'aide d'un microscope Nikon Eclipse (modèle E400) muni d'une caméra Spot Insight Color (modèle 3.2.0, Diagnostic Instrument Inc. Sterling Heights, EU). Une section de tissu par animal a été exploitée pour l'observation de tous les adipocytes contenus dans cette section.

Le nombre est estimé par la formule de Di Girolamo et al (1971) à partir de la teneur en lipides neutres et du volume des adipocytes.

Une analyse de variance a été effectuée utilisant la procédure GLM de SAS avec la nature du régime comme facteur principal, suivie d'une comparaison de moyenne des lots deux à deux.

#### Résultats et discussions

La nature des régimes n'a pas d'influence sur la teneur en lipides totaux (tableau 1), ce qui confirme des études antérieures. En revanche la proportion de lipide neutres est inférieure pour les animaux issu du lot avec graines

de lin extrudées (p<0,01). Le nombre d'adipocytes, estimé par calcul, semble influencé par le régime. Il est plus élevé chez les animaux des lots palme et tournesol (p<0,06).

Tableau 1 : Effet des régimes sur le diamètre et le nombre des adipocytes du muscle LD (nbr/ g de muscle)

	Diamètre (µm)	% lipides totaux	% lipides neutres	Nombre adipocytes / g
Palme	52,4	1,74	68,33 <sup>a</sup>	179754 <sup>a</sup>
Tournesol	51,4	1,71	68,81 <sup>a</sup>	180828 <sup>a</sup>
Graines de lin	54,2	1,64	59,73 <sup>b</sup>	130643 <sup>b</sup>
RSD	4,9	0,41	6,09	40647
Effet	NS	NS	P<0,01	P<0,06

Les valeurs en colonnes avec une lettre identique ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

L'effet des régimes sur la composition en acides gras n-6 et n-3 est une nouvelle fois démontrée (tableau 2). Pour la fraction des lipides neutres et polaires, l'effet est significatif pour les acides gras n-3. L'absence d'effet pour le C18:2 n-6 reste surprenant, mais il est à la limite signification. En proportion, par rapport à la fraction neutre, les lipides polaires vont contenir davantage de C20:4 n-6 et tous les acides gras de la famille n-3. La fraction des AG n-3 à longue chaîne est presque négligeable dans les lipides neutres et ils se retrouvent essentiellement dans les lipides polaires. On peut donc penser qu'ils sont davantage protégés dans les phospholipides ce qui peut expliquer leur bonne résistance à la cuisson et à la transformation (Guillevic et col, 2007).

Tableau 2 : Effet des régimes sur la composition en acides gras des lipides neutres et polaires du muscle

longissimus dorsi (expression en % des AG identifiés, les principaux AG sont rapportés).

iongissimus	Lipides neutres					Lipides polaires				
Régime	Palme	Tournesol	Lin	RSD	Effet	Palme	Tournesol	Lin	RSD	Effet
C16:0	25,56	25,00	24,74	0,87	NS	24,26	23,70	22,83	3,55	NS
C18:0	11,53	11,14	11,32	0,81	NS	14,26	14,14	13,78	2,60	NS
C18:1 n-9	48,11	48,27	47,38	1,36	NS	16,73	15,92	14,66	2,95	NS
C18:2 n-6	6,55	7,31	6,60	0,96	NS	29,07	31,15	30,73	6,33	NS
C18:3 n-3	$0,29^{a}$	$0,30^{a}$	1,63 <sup>b</sup>	0,15	P<0,001	$0,49^{a}$	$0,36^{a}$	$2,94^{b}$	0,34	P<0,001
C20:4 n-6	0,41	0,52	0,60	0,30	NS	6,49	6,71	5,88	3,13	NS
C20:5 n-3	$0,04^{a}$	$0,04^{a}$	$0,18^{b}$	0,09	P<0,005	$0,71^{a}$	$0,63^{a}$	1,74 <sup>b</sup>	0,55	P<0,001
C22:5 n-3	$0,10^{a}$	$0,11^{a}$	$0,36^{b}$	0,10	P<0,001	1,11 <sup>a</sup>	$0,92^{a}$	$2,27^{b}$	0,79	P<0,003
C22:6 n-3	$0,01^{a}$	0,01 <sup>ab</sup>	$0,05^{b}$	0,03	P<0,02	$0,34^{ab}$	$0,29^{a}$	$0,53^{b}$	0,16	P<0,02
AGS	38,80	37,80	37,79	1,43	NS	40,12	39,76	37,59	9,66	NS
AGM	53,42	53,50	52,37	1,42	NS	19,55	18,99	17,14	3,23	NS
AGPI	$7,79^{a}$	8,71 <sup>ab</sup>	$9,78^{b}$	1,40	P<0,01	39,98	41,56	45,45	8,23	NS
dont n-3	$0,44^{a}$	$0,46^{a}$	$2,21^{b}$	0,26	P<0,001	$2,65^{a}$	2,21 <sup>a</sup>	$7,48^{b}$	1,20	P<0,001
LA/ALA	$23,02^{a}$	24,96 <sup>a</sup>	$4,11^{b}$	3,27	P<0,001	64,04 <sup>a</sup>	94,58 <sup>b</sup>	$10,70^{c}$	24,97	P<0,001

#### Conclusion

La qualité nutritionnelle des lipides de la viande est améliorée par l'introduction de graines de lin extrudées dans l'alimentation du porc. Les acides gras n-3, surtout ceux à longues chaînes semblent se déposer préférentiellement au niveau des membranes des cellules, ce qui peut les protéger au cours de la transformation. Les AG n-3 semblent aussi intervenir sur le nombre des adipocytes au niveau du muscle. Ces premiers résultats seront à confirmer.

#### Références bibliographiques

Corino C., Musella M., Mourot J., 2008. J. Anim Sci., 86, 1-11.

Di Girolamo M., Mendlinger S., and JW Fertig. 1971 Am J Physiol, 221, 850-858.

Dubowitz V. In: Muscle biopsy. A practical approach. WB Saunders Compagny LTD. 1985, 707-715.

Folch J., Lee M., Sloane Stanley G.H., 1957. J. Biol. Chem., 226, 497-509.

Guillevic M., Le Minous AE., Blochet JE., Damon M., Mourot J. 2007 Jour. Recherche Porcine, 39, 223-230.

Hauser N., Mourot J., De Clercq L., Genart C., Remacle C., 1997, Reprod. Nutr. Dev., 37, 617-626.

Legrand P., 2005. Les oméga 3: nature, rôles, besoins et forme d'apport, Médecine et Nutrition, 41, 109-115.

Morrison W.R., Smith L.M., 1964. J. Lipid Res., 5, 600-608.

Mourot J., Hermier D., 2001. Reprod. Nut. Dev., 41, 109-118.

Sebedio JL., Septier C., Grandgirard A. 1986, JAOCS, 63, 1541-1548.

Wood J.D., Enser M., Fisher A.V., Nute G.R., Sheard P.R., Richardson R.I., Hughes S.I., Whittington F.I.. 2008. Meat Sci., 78, 343-358

# ANALYSE DES TRANSFERTS DE MATIERE LORS DU MARINAGE ACIDE DE LA VIANDE DE BŒUF ET ESTIMATION DE LA 'DIFFUSIVITE' DES IONS H<sup>+</sup>.

#### DAUDIN J.D. et LEBERT A.

#### UR370 Qualité des Produits Animaux, INRA, F-63122 Saint Genès Champanelle

#### Introduction

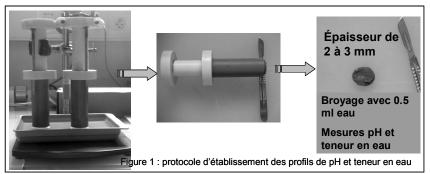
Les produits élaborés connaissent une croissance régulière de leur part de marché depuis quelques années car ils apportent aux consommateurs une plus grande facilité d'utilisation. Le marinage est un des moyens de valoriser des tissus animaux ayant une bonne valeur nutritionnelle mais dont la valeur bouchère est faible et qui sont de ce fait délaissés par les consommateurs. Ce procédé ouvre des perspectives de formulations sans hachage, technique habituelle de valorisation de ces morceaux alors que le marché des viandes hachées stagne.

Les transferts de matière (eau, protons, sucres, ions...) et la liaison de ces espèces chimiques aux protéines conditionnent les cinétiques réactionnelles et les modifications structurales.

Le but du travail est de caractériser les propriétés du tissu musculaire relativement à la migration des protons par un coefficient de diffusion apparent qui peut ensuite être utilisé dans des calculs de simulation de l'évolution de la distribution du pH dans des situations diverses (forme des produits, pH de la marinade...).

#### Matériels et méthodes

Des échantillons (diamètre 25 mm, longueur (l) 35 à 65 mm) de tissus maigres ont été prélevés sur les muscles semitendinosus et semimembranosus de bovins issus, soit de jeune bovin de moins de 3 ans, soit de vache de réforme de plus de 7 ans. Afin de promouvoir un transfert unidirectionnel et de maintenir une condition limite de Diriclet, permettant un traitement par une solution analytique simple de l'équation de Fick, ils ont été placés dans des porte - échantillons tel qu'illustré en figure 1, puis mis en contact pendant 4 jours à 10°C (et parfois aussi 2 et 6 jours) avec des



marinades simplifiées, en large excès (250 ml pour environ 25g), composées de mélanges d'eau et d'acide acétique de concentration variable (Tableau 1).

Concentration en	semitendinosus		semimenbranosu	
acide acétique	≤3 ans	≥7 ans	≤3 ans	≥7 ans
0,01 M	Χ		Х	
0,005 M			Х	
0,001 M	Χ	Х	Х	Х
0,0005 M			Х	
0,0001 M	Х		Х	

Après ce temps de contact, les échantillons étaient découpés en tranches orthogonales à la direction de transfert (fig.1). Le pH était mesuré sur une partie du broyat, additionné d'une faible quantité d'eau, et la matière sèche sur l'autre partie.

Tableau 1 : Conditions de réalisation des essais.

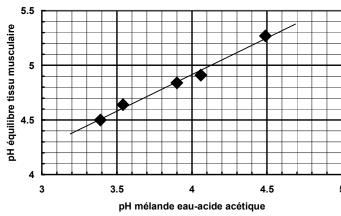
En première approximation, si l'on néglige le transfert d'eau et si l'on admet qu'au sein du tissu musculaire la dissociation de l'acide faible CH3COOH en ions CH3COO et H<sup>+</sup> est constante, la répartition spatiale de la teneur en protons s'exprime comme suit à l'instant t :

$$\left(\frac{C_{H(x,t)} - C_{H(0)}}{C_{H,surf} - C_{H(0)}}\right) = \frac{4}{\pi} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^{n+1}}{(2n-1)} Cos\left(\frac{(2n-1)\pi(1-x/l)}{2}\right) \exp\left[-(2n-1)^2 \frac{\pi^2 D t}{4l^2}\right]$$
Eq.1

Dans l'équation 1, D est la diffusivité apparente (en  $m^2/s$ ) et  $C_{H(x,t)}$  est la concentration molaire en protons au temps t à la distance x de la surface de contact avec la solution. Les indices '0' et 'surf' signifient respectivement 'au temps initial' et 'à la surface'. Si l'activité des protons est proche de 1, ce qui est vrai en milieu dilué,  $C = 10^{-pH}$ , ce qui permet d'avoir une expression directe du profil en pH; celle-ci peut être ajustée sur les mesures en identifiant D.

La valeur de  $C_{H,surf}$  est considérée égale à la valeur d'équilibre dès le premier instant du contact ; sa valeur théorique est inconnue et a due être mesurée lors d'expériences complémentaires.

#### Résultats



La figure 2 présente le résultat des expériences complémentaires : de fine languettes d'environ 1 mm d'épaisseur ont été immergées dans les différentes solutions d'acide acétique pendant 16 h à 10°C ; des expériences préliminaires avaient montré qu'ensuite le pH des échantillons n'évoluait plus.

Figure 2 : pH d'équilibre du tissu musculaire maigre de bœuf en fonction du pH des solutions eau/acide acétique.

La figure 3 concerne les marinages effectués pendant 2, 4 et 6 jours avec une solution 0.01 M à pH 3.4. L'ajustement des valeurs calculées aux valeurs expérimentales à 4 jours nécessite d'imposer une valeur de D égale à 3,5 10<sup>-11</sup> m<sup>2</sup>/s.

Les calculs effectués avec cette valeur de D pour les 3 temps sont représentés par les courbes continues. Pour une meilleure adéquation aux mesures (courbes en pointillés) il faut utiliser des valeurs de D respectivement égales à 2 10<sup>-11</sup> m²/s et à 6 10<sup>-11</sup> m²/s pour 2 et 6 jours. Ces résultats suggèrent que D augmente avec le temps, ou plutôt avec l'abaissement du pH et qu'il faudrait utiliser un modèle mathématique prenant en compte cette variation.

Les profils calculés en utilisant la diffusivité des protons dans l'eau, soit 2 10<sup>-9</sup> m<sup>2</sup>/s, indiquent un abaissement du pH beaucoup plus prononcé. Il est donc évident que la vitesse de migration des protons dans le tissu musculaire est très inférieure à celle dans l'eau.

Par ailleurs, les différences entre les deux muscles sont apparues négligeables et aucun effet de l'âge n'a été observé.

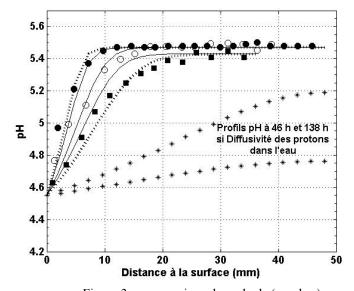


Figure 3 : comparaison des calculs (courbes) et des mesures (symboles).

#### Discussion et conclusion

Ces résultats apportent une première estimation des caractéristiques de la viande de bœuf en marinage acide. Même si le coefficient de diffusion apparent est le résultat de phénomènes plus complexes qu'une simple migration il fournit une valeur synthétique permettant des comparaisons plus faciles qu'en observant simplement des profils de distribution spatiale. Les valeurs obtenues ici servent de référence lors d'autres essais. Certains sont réalisés en immersion simple, ou en injection, avec des marinades contenant aussi du NaCl et d'autres ingrédients utilisés en pratique ; ce qui est susceptible de modifier l'acidification. D'autres essais prendront en compte les mouvements de déformation imposés pendant le barattage afin d'accélérer l'homogénéisation au sein des produits.

### Remerciements

Ce travail est réalisé dans le cadre de l'Unité Mixte de Technologie 'Génie Biochimique et Alimentaire des Produits Carnés'. Il est financé par l'Union Européenne (I.P. 'ProSafeBeef'). Les auteurs adressent leurs remerciements à Emilie Raymond pour son assistance technique.

# VERS UNE CONDUITE AUTOMATISEE DE L'ETUVAGE-SECHAGE DES SAUCISSONS UTILISANT UNE ESTIMATION DE L'ASSECHEMENT DE SURFACE A PARTIR DE MESURES NON INVASIVES ET D'UN MODELE DE TRANSFERT.

## DAUDIN J.D.<sup>1</sup> et SIRAMI J.<sup>2</sup>

(1) UR370 Qualité des Produits Animaux, INRA, F-63122 Saint Genès Champanelle, (2) ADIV, 10 rue Jacqueline Auriol, ZAC des Gravanches, 63039 Clermont Ferrand cedex 2

#### Introduction

La production annuelle de saucissons secs est de l'ordre de 700 000 t en Europe. La fabrication met toujours en œuvre des phases d'étuvage et de séchage mais il y a une grande variété de produits finaux. Le développement de leurs caractéristiques organoleptiques diffère principalement par les durées de ces deux phases, les ingrédients utilisés, le degré de hachage, la teneur en matière grasse, les ferments ajoutés et la taille (Dabin 1994). Il est alors très difficile de définir des règles générales de conduite automatisée de l'étuvage et du séchage qui permettraient d'éviter deux accidents de fabrication, voire d'optimiser la qualité : (i) le 'croûtage' qui correspond à un séchage prononcé en surface et entraîne des défauts d'arômes et de goûts (piquant ou acide) et (ii) le 'limonage ou poissage' qui, à l'inverse, résulte d'un assèchement insuffisant, favorisant un développement indésirable de la flore et d'un limon collant et aigre. Les opérateurs adaptent donc empiriquement les plages haute et basse d'humidité relative de l'air des appareils à partir de l'examen visuel du développement de la flore de surface et de la perception tactile de la dureté de la périphérie des produits. Stiebing et Rodel (1988, 1990 et 1992) ont conduit une série de travaux pour résoudre cette question en s'appuyant sur des mesures de poids et de pH des saucissons ou des mesures de températures mais les mesures étaient soit trop dépendantes du type de production, soit inadaptées au fonctionnement des séchoirs industriels. Certains constructeurs d'appareils ont aussi testé, sans succès, une conduite guidée par une mesure de pH.

Nos travaux ont privilégié une approche de type 'capteur intelligent' qui combine des mesures simples et un modèle mathématique du transfert d'eau de façon à estimer un critère d'assèchement de surface que l'on peut rapprocher de l'activité de l'eau moyenne de surface qui détermine le développement de la flore de surface et la dureté de la périphérie du produit.

#### Principe de l'estimation de l'assèchement de surface

Le principe consiste à mesurer la cinétique d'évolution de la pression partielle de vapeur d'eau (Pa(t)) à partir du temps  $t_0$  dans un volume d'air (Va) mis en contact avec un, ou des, saucisson(s) à l'aide d'un hygromètre, à point de rosée ou capacitif, et à calculer la valeur de la pression de vapeur d'eau (Psurf) régnant en surface à partir du bilan d'eau air/produit par l'équation suivante :

$$P_a(t) = P_{surf} + e^{-\frac{S.k}{a.V_a}} \left( P_a(t_0) - P_{surf} \right)$$
 Eq.1

Avec S, la surface du produit, k, le coefficient de transfert de matière air/produit et a, constante permettant de relier la teneur en eau et la pression de vapeur d'eau dans l'air. Par définition, Z est l'exposant de l'exponentielle. Connaissant la température de la surface (Tsurf), et donc la pression de vapeur saturante à cette température (Psatsurf), l'activité de l'eau moyenne (A<sub>w.surf</sub>) peut être déduite par :

$$A_{w surf} = P_{surf} / P_{satsurf}$$
 Eq.2

#### Matériels et méthodes

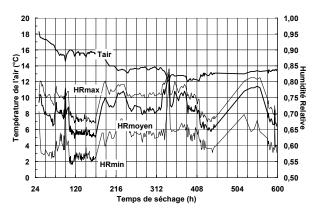
Dans un premier temps un dispositif indépendant, ou détecteur d'assèchement, a été conçu et testé. Au temps t<sub>0</sub>, le saucisson est placé dans une cellule, inclue dans un circuit d'air fermé qui est préalablement rempli d'air sec et sur lequel sont disposés une pompe de circulation et un hygromètre à point de rosée. Dans ce cas Z est connu, k ayant été déterminé lors d'essais préalables au moyen de moules en plâtre de saucissons (Kondjoyan 1993).

Dans un deuxième temps le même traitement des données a été appliqué à la cinétique de réhumidification enregistrée par un hygromètre capacitif dans un séchoir à ventilation alternative et intermittente pendant la phase dite 'de repos'

Dans les deux cas la température de la surface d'un saucisson est mesurée par un thermocouple et un opérateur note périodiquement selon ses critères habituels le degré de 'croûtage' sur une échelle arbitraire.

Les saucissons ont été fabriqués avec les caractéristiques suivantes pour 100 kg de mêlée (80 % maigre et 20 % gras de bardière) : hachage 6 mm, sel nitrité 2,2 %, NaCl 0,6 %, Salpêtre (0,1 %), pas de ferment ajouté, boyaux collagénique et diamètre 10 cm ou 5cm.

#### Résultats et discussion



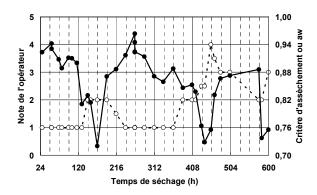
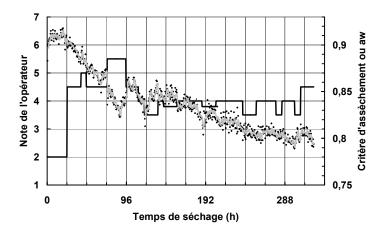


Figure 1 : (gauche) variation des conditions d'étuvage et de séchage imposées lors d'un essai mené avec le détecteur d'assèchement, (droite) note attribuée par l'opérateur sur une échelle 1 à 5 (o) et a<sub>w</sub> moyenne estimée (•)

La figure 1 montre que lorsque l'humidité relative de l'air est abaissée – ici volontairement pour tester la méthode – l'opérateur observe logiquement un début de croûtage après environ 24h. La variation du critère d'assèchement est forte et concomitante ; elle permet même de détecter un changement de l'assèchement de surface avant l'opérateur.



Note	Aspect du saucisson
1	Très collant
2	Collant - Limon
3	Début de limonage
4	Normal
5	Trop sec
6	Résistance sensible au toucher
7	Croûtage marqué

Tableau 1 : signification de la note attribuée par l'opérateur sur la figure 2.

Figure 2 : Comparaison du critère d'assèchement estimé à partir de mesures dans le séchoir et de la note attribuée par l'opérateur (—).

La figure 2 présente les résultats d'un essai au cours duquel le critère d'assèchement a été calculé à partir de la mesure des variations d'humidité relative de l'air dans le séchoir pendant chaque période de repos, soit 2 à 8 estimations par heure. Le paramètre Z de l'équation 1 n'est alors pas connu théoriquement : (i) les conditions locales de ventilation qui permettraient de fixer k et (ii) le volume d'air concerné par l'échange sont inconnus. Ce paramètre a donc aussi été ajusté ; ceci explique en partie les fluctuations des estimations. La courbe grise est calculée par une moyenne glissante sur 5 de ces estimations, soit environ 1 heure. La correspondance avec les observations de l'opérateur est toujours excellente.

### Conclusion

La méthode permet de suivre par une mesure indirecte l'assèchement de la surface des saucissons pendant leur étuvageséchage aussi bien que ne le fait habituellement un opérateur. Une installation pilote de démonstration de conduite automatisée utilisant ce principe est en test sur la plate-forme de l'ADIV.

### Références bibliographiques

Dabin E., Jussiaux R., 1994. Le saucisson sec. ERTI éditeur. 216 p.

Stiebing A., Rodel W., 1988. Fleischwirtschaft, 68, 10.

Stiebing A., Rodel W., 1990 . Fleischwirtschaft, 70, 9.

Stiebing A., Rodel W., 1992. Fleischwirtschaft, 72, 11, 1457-1459

Kondjoyan A., Daudin J-D., 1993. Int J. Heat and Mass Transfer. 36, 7, 1807-1818.

# IMPACT DE LA NATURE DES ACIDES GRAS DANS L'ALIMENTATION DES PORCS SUR LA QUALITE DES PRODUITS DE CHARCUTERIE.

Partie 3 : Effet sur les propriétés fonctionnelles des viandes

# DE BROUCKER T.<sup>1</sup>, LE MINOUS A.E.<sup>1</sup>, BLOCHET J.E.<sup>2</sup>, GUILLEVIC M.<sup>3</sup>, MOUROT J.<sup>3</sup> <sup>1</sup>ADRIA développement, 29196 Quimper; <sup>2</sup> ZOOPOLE développement, 22440 Ploufragan; <sup>3</sup> INRA - UMR 1079 SENAH, 35590 St-Gilles

Dans le cadre du projet de recherche porc santé du PNDIAA, ADRIA Développement a réalisé une étude portant sur l'évaluation des propriétés fonctionnelles des viandes et du gras de bardière de porcs ayant été nourris avec trois régimes alimentaires différents. Ces trois régimes sont iso-lipidiques, iso-énergétiques, iso-protéiques, seule la source de lipides diffère (Guillevic et al., 2007) : un régime standard servant de témoin (contenant de l'huile de palme), un régime riche en oméga 6 (contenant de l'huile tournesol), un régime riche en oméga 3 (contenant des graines de lin extrudées).

Les mesures de propriétés fonctionnelles ont pour finalité de déterminer l'aptitude des viandes à être utilisées dans un produit de charcuterie. Elles sont mesurées sur deux muscles : le semi-membranosus (SM) utilisé pour le jambon, et le longissimus dorsi (LD) utilisé pour le rôti. La mesure de capacité gélifiante de la viande présente un intérêt dans l'industrie charcutière puisqu'elle permet d'évaluer la capacité de leurs protéines à se lier entre elles et former un réseau résistant qui assure la cohésion des éléments constitutifs des produits de charcuterie cuite. La capacité émulsifiante des protéines et leur capacité de stabilisation ont une influence sur la rétention de matière grasse par la viande. La capacité de rétention d'eau de la viande a une influence sur le rendement de production du jambon blanc cuit, par exemple.

L'objectif de cette étude est de comparer ces propriétés fonctionnelles en fonction des régimes alimentaires reçus par les animaux puis de les relier aux propriétés sensorielles de produits de charcuterie élaborés par des industriels.

#### Matériel et méthodes

Les gras de bardière sont stockés et analysés à 4°C. Les mesures de texture sont réalisées sur la couche interne de la face dorsale du gras. Elles sont réalisées lors de test de pénétrométrie par une sphère de 12 mm de diamètre à vitesse de déformation constante (15mm/min). La valeur retenue est une résistance à la déformation (en N/mm).

Les propriétés fonctionnelles des viandes sont évaluées selon les méthodes décrites par Pinel (Pinel et al., 1985). Les dosages protéiques sont réalisés selon la méthode de Dumas. Pour chaque analyse 6 échantillons issus de chacun des trois lots ont été traités. Les analyses sensorielles sont réalisées à ADRIA senso par un jury d'expert entraîné (cf. partie 2).

#### Résultats, discussion:

Tableau 1 : Propriétés technofonctionnelles des muscles et du gras de bardière (a : moyenne, b : écart type).

		régimes			
	standard	tournesol	lin		
Muscle semi-membraneux (SM)					
Teneur en protéines (g/100 g de viande)	$22,5^{a}(1^{b})$	22,7 (1)	22,9 (1)		
Capacité émulsifiante (g d'huile Par g de viande)	189 (1,6)	185 (2,9)	196 (1,2)		
Capacité émulsifiante (g d'huile Par g de protéine)	840 (7)	815 (13)	856 (5)		
Stabilité thermique de l'émulsion (% d'huile stabilisée)	90,5 (0,1)	91,7 (0,7)	89,2 (0,8)		
Perte en eau après cuisson	16,2 (1,8)	15,9 (1,4)	14 (1,9)		
Force à la rupture du gel de viande (N)	83,9 (7,1)	83,8 (3,6)	69,6 (6,6)		
Déplacement à la rupture du gel (mm)	10,8 (0,9)	11,1 (0,5)	9,3 (0,6)		
Muscle longissimus-dorsi (LD)					
Teneur en protéines (g/100 g de viande)	24,1 (1)	24,5 (1)	24,8 (1)		
Capacité émulsifiante (g d'huile Par g de viande)	190 (3,5)	189 (11)	199 (0,4)		
Capacité émulsifiante (g d'huile Par g de protéine)	788 (15)	759 (45)	802 (2)		
Stabilité thermique de l'émulsion (% d'huile stabilisée)	90,6 (0,2)	89,2 (0)	89,9 (0,4)		
Perte en eau après cuisson	14,7 (1,4)	14 (1,9)	12,4 (1,3)		
Force à la rupture du gel de viande (N)	82 (7,3)	70,9 (4,3)	73,4 (3,5)		
Déplacement à la rupture du gel (mm)	9,4 (0,3)	8,6 (0,4)	8,8 (0,5)		
Gras de bardière					
Pénétromètrie, Pente à 6 mm	0,29 (0,16)	0,14 (0,06)	0,13 (0,06)		

## Propriétés fonctionnelles des muscles (tableau 1)

La viande de SM issue d'un régime à base de lin semble avoir de meilleures capacités émulsifiantes que celle issue d'un régime standard ou d'un régime à base de tournesol, avec respectivement 196, 189 et 185 grammes d'huile incorporés par gramme de viande. Nous pouvons observer la même tendance pour le muscle LD, avec des valeurs quasiment similaires. Par contre, le régime alimentaire ne semble pas avoir d'influence majeure sur la capacité de stabilisation de l'émulsion. La viande de SM issue d'un régime à base de lin subit une perte en eau pendant la cuisson plus faible que la viande issue d'un régime standard et que la viande issue d'un régime à base de tournesol, avec des valeurs respectives de 14,0 g, 16,2 g et 15,9 g d'eau pour 100 g de viande. Le même phénomène est observé sur le muscle LD (avec des pertes en eau légèrement plus importantes pour le muscle LD que pour le SM).

La capacité gélifiante des muscles d'un porc nourri au lin semble inférieure à celle des porcs nourris avec le régime standard. La force et le déplacement à la rupture d'un gel produit à partir de muscle SM issu d'un porc nourri au lin sont de 69,9 N et 9,3 mm, contre 83,9 N et 10,8 mm pour le régime standard. La force et le déplacement à la rupture d'un gel produit à partir d'un muscle SM issu d'un porc nourri au lin sont respectivement de 73,4 N et 8,8 mm, contre 82 N et 9,4 mm pour le régime standard. Pour le régime tournesol, l'impact du régime est moins évident.

La teneur en protéines des muscles n'est pas influencée par le régime alimentaire : la teneur en protéines des muscles SM est comprise entre 22 et 23% quel que soit le type de régime, celle des muscles de LD est comprise entre 24 et 25%. Nous n'observons pas de corrélation entre la teneur en protéine et les propriétés fonctionnelles des viandes.

#### Propriété de texture du gras de bardière (tableau 1)

Les gras de bardière présentent une forte variabilité de texture au sein d'un même régime (l'écart type est égal à environ 50% de la moyenne des mesures). Nous pouvons toutefois observer une résistance à la déformation plus importante pour le gras de bardière des porcs du régime standard que pour ceux des autres régimes (Tableau 1). Cette différence de texture entre les gras de bardière du régime standard et ceux des deux autres régimes peut être expliquée par le fait qu'à la température à laquelle sont réalisées les mesures de texture (4°C), les acides gras poly-insaturés n'ont pas dépassé le point de fusion. Le gras de bardière des porcs standard contient moins d'acides gras poly-insaturés ayant dépassé le point de fusion (15,2 %) que les gras de bardière des porcs issus des autres régimes (20,2 % pour le tournesol, 19,7% pour le lin). (Guillevic et al., 2007)

#### Impact des Propriétés fonctionnelles des aliments sur la perception sensorielle des produits de charcuterie

Ce paragraphe présente les principales caractéristiques de texture des trois produits de charcuteries (pâté de campagne, poitrine fumée et jambon blanc) évalués en analyses sensorielles et tente de voir si ces caractéristiques peuvent être expliquées par l'étude des propriétés fonctionnelles des viandes. Ces comparaisons entre analyses sensorielles des produits charcutiers et propriétés fonctionnelles des viandes portent sur certaines caractéristiques de texture définies au préalable pour chaque produit par un jury d'expert (les cases ne sont donc pas toutes remplies).

Tableau 2 : Récapitulatif des aspects de texture et de perception en bouche évalués par un jury d'experts. Les valeurs indiquées correspondent à des notes dont l'échelle est comprise entre 0 et 7. Les différences significatives sont teintées en vert (std. : standard, tour. : tournesol).

	ĺ	fondant	sensation grasse	séche après	ferme	dur à	tendre	cassant en	moelleux
		Torradin	au palais	mastication	1011110	mastiquer	tonaro	bouche	moonoux
paté de	std.	4 (1)	4,45 (1,63)	2,91 (1,58)	2,45 (0,93)				
campagne	tour.	4,55 (1,04)	4,55 (1,29)	2,91 (1,58)	2,55 (1,04)				
	lin	3,18 (1,4)	4,27 (1,35)	3,09 (1,45)	3,27 (1,01)				
poitrine	std.		5,33 (1,13)	2,67 (1,05)		3,92 (1,59)	3,33 (1,52)		
fumée	tour.		4,75 (1,26)	3,58 (1,14)		4,5 (1,35)	3 (1,44)		
	lin		4,67 (1,52)	3,58 (1,74)		4,42 (1,64)	3,17 (1,43)		
jambon	std.			2,92 (1,41)		1,83 (0,92)		2,75 (1,67)	3,42 (1,21)
blanc	tour.			3,17 (1,43)		2,42 (1,28)		2,75 (1,26)	3,08 (1,41)
	lin			3,25 (1,26)		2,5 (1,41)		3,08 (1,21)	2,92 (1,35)

<u>Aspect sec après mastication</u>: L'aspect sec après mastication est plus marqué sur les produits de charcuterie issus de porcs nourris au lin (tableau 3). Ceci peut être expliqué par l'augmentation des propriétés de rétention d'eau que ce régime provoque sur les muscles SM et LD. L'eau est mieux retenue par le produit et est moins relargué pendant la mastication.

<u>Sensation grasse au palais</u>: La poitrine fumée et le pâté de campagne issus de porcs nourris au lin dégagent une sensation en bouche moins grasse que leurs homologues issus du régime standard (tableau 2). Ceci peut être expliqué par la capacité émulsifiante plus importante pour les viandes de porcs issus du régime à base de lin.

<u>Aspects relatifs à la texture et la mastication:</u> <u>L</u>es analyses sensorielles montrent que les produits de charcuteries provenant des porcs issus du régime à base de lin sont d'une manière générale plus fermes que ceux issus du régime standard (poitrine et jambon plus dures à mastiquer, pâté plus ferme). Or la capacité gélifiante des muscles de porcs nourris au régime à base de lin est plus faible que celle des muscles issus de porcs nourris au régime standard (tableau 1).

Les résultats obtenus lors des tests sensoriels et fonctionnels ne sont pas directement comparables puisque les mesures de capacités gélifiantes sont réalisées sur les viandes seules alors que les évaluations sensorielles sont réalisées sur des produits formulés. Les agents de texture présents dans les produits charcutiers peuvent masquer les propriétés fonctionnelles des viandes de porc.

#### **Conclusion:**

Le régime alimentaire ne semble pas avoir d'impact important sur la perception sensorielle de la texture des trois produits de charcuterie étudiés. Cependant, il semble avoir une influence sur les propriétés fonctionnelles des viandes de porc. L'impact du régime sur le gras de bardière est davantage marqué. Il faut noter toutefois que le facteur animal est à prendre en compte, puisque d'un animal à l'autre les propriétés fonctionnelles peuvent varier et être plus importantes que la variabilité entre des porcs issus de deux régimes différents.

#### Références bibliographiques :

Guillevic M., Le Minous A.-E., Blochet J.-E., Damon M., Mourot J. 2007, Journées Recherche Porcine, 39, 223-230. Pinel M., Corcuff N., Joannic P., Gautier A. 1985, VPC, Vol.6 (4), 135-138. Dumas A. 1826. Annales de chimie, 33,342.

# INTERET DES RESEAUX BAYESIENS POUR EXPLORER ET EXPLOITER LES RESULTATS DE L'ANALYSE SENSORIELLE. APPLICATION AU JAMBON DE BAYONNE

# DUTERTRE C.<sup>1</sup>, JOUFFE L.<sup>2</sup>, ROBERT N.<sup>1</sup>, DUPLANTIER I.<sup>3</sup>,

(1) INPAQ - Consortium du Jambon de Bayonne - PYRAGENA, 64410 Arzacq (2) BAYESIA, 6 rue Léonard de Vinci - BP0119 53001 Laval Cedex (3) Laboratoire Adour Bio Conseil, 64410 Arzacq

#### Introduction

L'analyse sensorielle procure un grand nombre de données dont il est parfois difficile de tirer partie. L'objectif de cette étude est de déterminer l'intérêt des réseaux bayésiens à la fois pour découvrir des informations pertinentes à partir des données de l'analyse sensorielle et pour les communiquer. Un réseau bayésien est un graphe acyclique dans lequel chaque nœud représente une variable aléatoire et chaque arc représente une relation probabiliste directe. Il représente de manière factorisée la loi de distribution jointe entre ces variables. Historiquement construit uniquement par expertise, les réseaux bayésiens peuvent désormais être induits automatiquement par data mining. Ils constituent alors de puissants outils d'analyse de données.

#### Matériels et Méthodes

Le réseau bayésien représenté dans la figure 1 a été automatiquement induit par le logiciel BayesiaLab à partir des données issues de l'analyse sensorielle de 389 échantillons de Jambon de Bayonne. L'algorithme d'apprentissage non supervisé (TabooOrder) a permis de trouver la meilleure représentation de la distribution de probabilité jointe des 38 descripteurs de l'analyse sensorielle. Chaque descripteur est caractérisé par un jury expert avec une note comprise entre 0 et 6. Chaque variable est discrétisée en deux intervalles d'égale distance : [0 ; max/2] et ]max/2 ; max].

BayesiaLab a ensuite été utilisé pour construire automatiquement des groupes de variables homogènes. L'algorithme de segmentation de variables repose sur une classification hiérarchique ascendante utilisant comme métrique la divergence de Kullback-Leibler (KL). Le nombre de groupes est automatiquement défini grâce à un seuil KL. Enfin, l'algorithme de segmentation de données a permis d'induire une variable latente pour chaque groupe de variables identifié (Figure 3). Chaque variable latente représente alors le résumé probabiliste des variables du groupe, ou, en d'autres termes, la cause cachée (le concept) expliquant les relations entres ces variables.

#### Résultats et Discussion

La figure 1 présente l'ensemble des relations probabilistes directes entre 36 descripteurs de l'analyse sensorielle du Jambon de Bayonne sur 38 au total. Chaque nœud du réseau correspond à une colonne/variable dans la base de données. L'épaisseur des arcs est proportionnelle à la force de la relation probabiliste entre les variables. Cette force, calculée selon la divergence de Kullback-Leibler (KL), représente la contribution de chaque arc dans la représentation globale la distribution de la probabilité jointe. Elle est beaucoup plus pertinente qu'une simple mesure de corrélation entre deux variables, comme par exemple la corrélation de Pearson, en tant que mesure globale et non linéaire. Comme le montre la figure 1, l'algorithme de segmentation de variables a identifié 7 clusters facilement identifiables par leur couleur.

Le tableau 1 ci-après décrit la force des relations basée sur la KL Divergence, la contribution globale dans la représentation de la probabilité jointe, le G-test et sa p-valeur, et enfin le coefficient de Pearson correspondant.

Tableau 1. Analyse quantitative des relations entre variables

Relationship Analysis										
Parent	Child	Kullback-Leibler	Relative	Global	Mutual	Pearson's				
	Ciliu	Divergence	Weight	Contribution	information	Correlation				
f à mâcher	tendre	0.425093	1.0000	9.48%	0.425093	0.7313				
goût	persisgoût	0.244508	0.5752	5.45%	0.230364	0.5494				
fumé	poivre	0.212485	0.4999	4.74%	0.212485	0.5350				
poivre	odépices	0.168713	0.3969	3.76%	0.168713	0.4767				
jaune	odrance	0.159360	0.3749	3.55%	0.159360	0.4563				

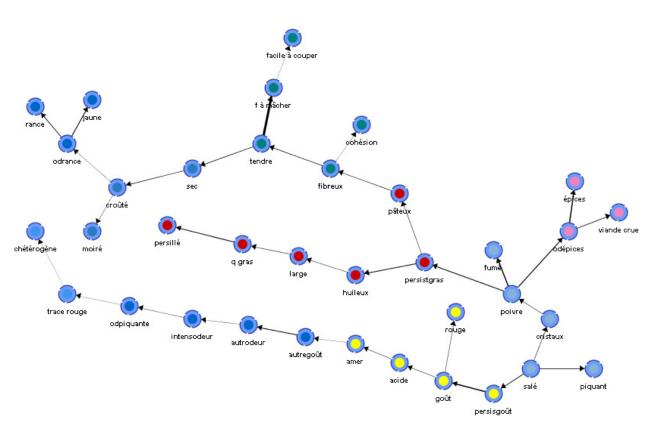


Figure 1. Force des relations entre les variables de l'analyse sensorielle

Le réseau en figure 2 représente le concept majeur du jambon de Bayonne: la tendreté (29% de poids relatif dans le modèle). Les commentaires associés aux arcs représentent les coefficients de Pearson. Chaque concept est associé à un moniteur qui permet non seulement de calculer la probabilité marginale de la variable, mais aussi de mesurer l'impact d'un état de la variable (tendreté élevée en figure 2) sur l'ensemble des autres variables.

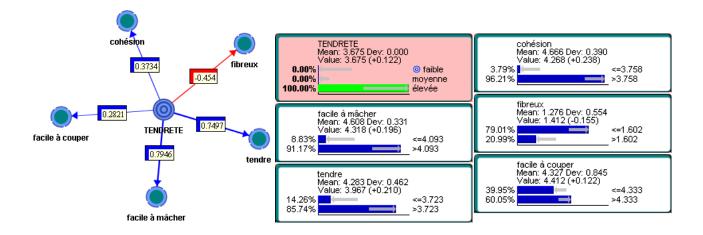


Figure 2. Un concept tendreté élevé, caractéristique n°1 du Jambon de Bayonne

#### Conclusion

Les réseaux bayésiens ont un très grand intérêt pour réduire la complexité et l'incertitude attachée à la notion d'analyse sensorielle, le tout en respectant une grande rigueur mathématique dans la modélisation. La représentation visuelle des modèles est un atout majeur pour communiquer les résultats et améliorer la diffusion des connaissances sur les produits de qualité et d'origine tels que le jambon de Bayonne.

# EFFET D'UN REGIME A BASE DE GLAND DE CHENE VERT SUR LE PROFIL D'ACIDES GRAS DU MUSCLE *LONGISSIMUS DORSI* DU MOUTON EN CROISSANCE.

ELAFFIFI M.<sup>1</sup>, BOUDEROUA K<sup>1</sup>., MOUROT J.<sup>2</sup>, KEDDAM R.<sup>1</sup>, SELSELET-ATTOU G.<sup>1</sup>

<sup>2</sup>INRA, UMR 1079 Systèmes d'élevage Nutrition Animale et Humaine, 35590 Saint-Gilles, France

#### Introduction

Des travaux antérieurs (Boles et al., 2005) ont jugé la viande rouge des ruminants trop riche en acides gras saturés AGS, avec un rapport AGPI/AGS très bas et en AG n-6/n-3 très élevé. Malgré ses vertus nutritionnelles (Chan et al., 1995), elle est jugée comme une viande responsable de certaines pathologies cardiovasculaires. Toutefois, cette composition en AG peut être modifiée par un apport alimentaire adéquat des animaux. Ce travail vise à étudier l'effet de l'introduction dans le régime du gland de chêne vert (Quercus ilex), source indigène naturellement riche en AGPI n-3 sur la composition en acides gras du muscle *Longisssimus dorsi* (Berthelot et al., 2004).

#### Matériel et méthodes

L'essai, de 100 jours, a été réalisé sur dix agneaux de race locale et de poids moyen initial de 32±1,65Kg, divisés en deux lots, recevant quotidiennement deux régimes iso protéique à raison de 300 g/sujet/j, un témoin à base d'orge, l'autre expérimental à base de glands de chêne incorporés à 50% dans le régime. Les régimes sont caractérisés par une teneur lipidique respective de 2,56 et 6.50%, dominés essentiellement par le C18:2 n-6 (24,3 vs 54,1%) et le C18:3 n-3 (1,3 vs 4,2%). A l'abattage, des échantillons du tissu musculaire du *Longisssimus dorsi* ont été prélevés 24 h post-mortem et conservés à -18°C. Les lipides ont été extraits selon la méthode de Folch et al. (1957) et leur composition en AG déterminés par CPG. Les résultats ont subi une analyse de variance avec le logiciel SAS.

### Résultats et discussion

L'essai ne montre aucune différence significative pour les critères de performances de croissance et de rendement à l'abattage (Tableau 1), ce qui semble indiquer que les sujets du lot expérimental ont une aptitude à valoriser le gland apporté par l'aliment. Par contre, les lots présentent une différence significative (P<0,05) sur l'épaisseur du tissu adipeux sous cutané de 46% entre les carcasses des animaux des deux régimes (0,30 vs 0,16 mm).

Tableau 1 : Effet du régime alimentaire sur les paramètres pondéraux et les rendements en carcasse de moutons

Régimes	Témoin (orge)	Expérimental (glands de chêne
Croissance (g/semaine)	681±41 <sup>a</sup>	650±82ª
Poids vif à l'abattage (kg)	42,02±3,30 <sup>a</sup>	41,64±0,37 <sup>a</sup>
Poids carcasse (kg)	20,00±1,41 <sup>a</sup>	19,40±0,82°
Rendement carcasse%	46,12±2,10 <sup>a</sup>	44,82±1,19 <sup>a</sup>

Chaque valeur est la moyenne de 5 animaux. Les valeurs en ligne affectées de la même lettre ne sont pas statistiquement différentes

Le type d'alimentation n'a eu aucun impact sur la teneur en matière sèche du muscle (31,7 vs 30,7 %) ni sur celle en lipides (Tableau 2). Ceci corrobore d'autres études apportant des huiles de colza ou de tournesol et sans incidence sur le dépôt adipeux omental (Bas et al., 2005). Dans l'ensemble (Tableau 2), l'apport du gland engendre une élévation en AGMI représentée par le C18:1 n-9, et une réduction de 6,25% en AGS pour les animaux du lot expérimental. La teneur en acide palmitique est plus faible par rapport au témoin. Cette observation a été déjà faite par Geay et al., (2002) dans un essai apportant du lin avec une différence de moins 0,5%. L'acide stéarique présente une teneur comparable entre les animaux des deux régimes. Les monoènes dont l'acide oléique dépasse de 6,44% celui du muscle témoin (38,64 vs 36,15%). L'acide linoléique C18:2 représente plus de 9% dans le muscle des animaux expérimentaux par rapport au muscle témoin, mais la différence n'est pas significative. Aucune différence significative n'a été perçue pour l'acide linolénique

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Laboratoire de Technologie Alimentaire et de Nutrition, Université de Mostaganem BP 300 Mostaganem-Algérie

contrairement à un apport en colza, lin ou herbe qui ont enregistré un enrichissement de plus de 130% (Rondia et al., 2003; Chew et al., 2003). Dans ces essais, les AGPILC notamment l'EPA ont présenté des différences respectives de 93,02% et 81,66%. Le rapport n-6/n-3 est également significativement diminué (5,55 vs 8,31).

**Tableau 2 :** Effet du régime alimentaire sur la composition en acides gras du muscle *Longissimus dorsi* (en % des acides gras identifiés) de mouton

	Témoin (orge)	Expérimental (glands de chêne)	SEM
MS %	31,72 <sup>a</sup>	30,72 <sup>a</sup>	1,91
Lipides totaux %	20,99 <sup>a</sup>	23,22ª	1,86
C16:0	26,56 <sup>a</sup>	23,81 <sup>b</sup>	1,04
C18:0	24,40 <sup>a</sup>	24,27 <sup>a</sup>	1,69
C18:1 n-9	36,15 <sup>a</sup>	38,64 <sup>b</sup>	1,14
C18:2 n-6	3,01 <sup>a</sup>	3,41 <sup>a</sup>	0,68
C18:3 n-3	0,25 <sup>a</sup>	0,25 <sup>a</sup>	0,3
C20:4 n-6	0,11 <sup>a</sup>	0,60 <sup>b</sup>	1,32
C20:5 n-3	0,03 <sup>a</sup>	0,43 <sup>b</sup>	1,3
AGS	55,12 <sup>a</sup>	51,56 <sup>b</sup>	1,01
AGMI	41,21 <sup>a</sup>	43,47 <sup>b</sup>	1,33
AGPI	3,51 <sup>a</sup>	4,97 <sup>a</sup>	0,73
n6 / n3	8,31 <sup>a</sup>	5,55 <sup>b</sup>	0,65

Chaque valeur est la movenne de 5 animaux. Les valeurs en ligne affectées de la même lettre ne sont pas statistiquement différentes

#### Conclusion

Comparativement à nos essais antérieurs sur le poulet, le faible niveau d'incorporation des lipides alimentaires riches en AGPI dans le muscle du mouton en raison de la biohydrogénation, nous suggère de supplémenter le régime à base de glands avec de l'herbe.

### Références bibliographiques

Bas P., Morand-Fehr P., Elaich A., Dahbi E., Araba A. (2005). Cah. Agriculture, Vol 14 n°5,455-60 Berthelot V., Poissonet P., Saade M., Bas P. (2004). Renc. Rech. Ruminants 11, Paris, 8-9 décembre 2004, 77 pp.

Boles J.A., Kott R.W., Hatfield P.G., Bergman J.W., Flynn C.R. (2005). J. Anim. Science. 83, 2175-2181.

Chan W., Brown J., Lee SM., Buss D.H. (1995). Meat, poultry and game: fifth supplement to the fifth edition of McCance and Widdowson's the composition of foods. The Royal Society of Chemistry and Ministry of Agriculture, Fisheries and foods.

Chew T.T., Fievez V., Raes K., Demeyer D., Smith S. (2003). Proceeding of the British Society of Animal, pages

Folch J., Lees M., Sloane-Stanely J.H. (1957). J. Biol. Chem., 233, 311-320.

Geay Y., Bauchrt D., Hocquette J-F., Culioli J. (2002). INRA. Prod. Anim., 15, 35-52.

Rondia P., Delmotte C., Dehareng F. Maene D., Toussaint J.F., Bartiaux-Thill N. (2003). Renc. Rech. Ruminants 10, 227-230.

Washira A.M., Sinclair L.A., Wilkinson R.G., Enser M., Wood J.D., Fisher A.V.(2002). Brit. J. Nut., 88,697-709

#### EFFET DE LA CUISSON DE LA VIANDE SUR L'OXYDATION DES PROTEINES

# GATELLIER, P., YOON, K., GREVE, E., PORTANGUEN, S., KONDJOYAN, A., SANTE-LHOUTELLIER, V.

#### INRA, UR370 QuaPA, 63122 Saint Genès Champanelle

#### Introduction

Après la mort de l'animal, le muscle est soumis à un stress oxydatif intense du fait d'une production accélérée de radicaux libres et d'une diminution de la protection antioxydante. En favorisant ces réactions, les traitements thermiques peuvent avoir un effet négatif sur les qualités sensorielles et nutritionnelles des viandes et des produits carnés dont l'ampleur reste encore peu connue. Les protéines sont, avec les lipides, les cibles privilégiées de l'attaque radicalaire. Certains acides aminés sont particulièrement sensibles à l'oxydation (Stadtman, 1990). Les acides aminés à fonction amine s'oxydent en donnant des résidus carbonyles. La cystéine s'oxyde avec formation de ponts disulfures intra ou inter chaîne. Enfin, les acides aminés aromatiques subissent des réactions d'hydroxylation. Ces modifications oxydatives des acides aminés, dont certains sont essentiels, conduisent à une diminution de la valeur nutritionnelle des protéines. Les aldéhydes issus de la peroxydation lipidique et les sucres réducteurs peuvent aussi réagir avec les groupements amines des protéines pour donner des bases de Schiff. Ces oxydations vont entraîner des dénaturations importantes des protéines qui peuvent modifier leurs propriétés fonctionnelles et leur digestibilité (Santé-Lhoutellier, 2007 et 2008).

#### Matériel et méthodes

Les mesures ont été réalisées sur le muscle *Longissimus Thoracis* de bœuf. Après 11 jours de conservation sous vide, les échantillons ont été soumis à un traitement thermique contrôlé par jet de vapeur. Ce traitement a été appliqué sur des couches minces de viande (2 mm) afin d'obtenir une température uniforme dans le produit. Les chauffages ont été réalisés pendant 5 minutes à des températures moyennes d'échantillon de 90°C ou de 150°C. L'oxydation des protéines a été évaluée par mesure du taux de carbonyle (Oliver *et al.*, 1987) et de la teneur en thiols libres (Winterbourn, 1990). Enfin les interactions entre les produits d'oxydation des lipides et les protéines ont été estimées par la mesure des bases de Schiff en spectroscopie de fluorescence (Renerre *et al.*, 1996).

#### Résultats et discussion

**Formation des carbonyles :** La figure 1 montre que la cuisson à 90°C n'entraîne pas la formation de résidus carbonyles. Par contre pour une cuisson à 150°C on observe une augmentation importante de ces produits à partir de 60 secondes de traitement et, après 5 minutes de chauffage, le taux de carbonyle est multiplié par 4. L'ANOVA révèle un effet significatif du temps et de la température de cuisson (p<0.001). Une augmentation comparable avait été observée sur des myofibrilles extraites de viandes chauffées à 100 °C (Santé-Lhoutellier *et al.*, 2008). Les résidus carbonyles sont des facteurs de polymérisation et d'agrégation des protéines car ils peuvent réagir sur les groupements amines libres pour former des liaisons amides intra ou inter chaînes.

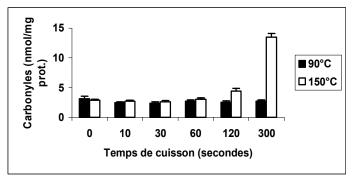


Figure 1 : Effet de la cuisson de la viande sur le taux de carbonyles (n=6)

Oxydation des thiols libres: L'ANOVA révèle un effet significatif du temps de cuisson (p<0.05) mais pas de la température sur l'oxydation des groupements thiols. Aux deux températures de chauffage (figure 2), on observe une augmentation initiale des thiols libres correspondant à une dénaturation des protéines avec une exposition en

surface de thiols préalablement inaccessibles au réactif de dosage. Après 1 minute de chauffage ces thiols, soumis à l'attaque radicalaire, s'oxydent pour former des ponts disulfures. Ces ponts disulfures, lorsqu'ils s'établissent entre deux chaînes peptidiques différentes, participent à l'agrégation des protéines.

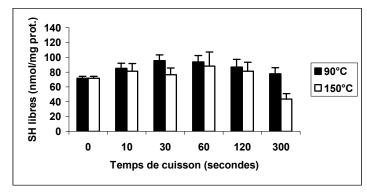


Figure 2: Effet de la cuisson de la viande sur la teneur en thiols libres (n=6)

Formation des bases de Schiff: La figure 3 montre une augmentation de la fluorescence dans les viandes chauffées qui traduit la formation de complexes aldéhyde-protéine (bases de Schiff). Ce phénomène est surtout marqué à 150°C où la fluorescence augmente d'un facteur 20 en 5 minutes. L'ANOVA révèle un effet significatif du temps et de la température de cuisson (p<0.001). Une augmentation de fluorescence beaucoup plus faible a déjà été observée dans des viandes lors d'une conservation réfrigérée (Renerre *et al.*, 1996; Gatellier *et al.*, 2007). Le malonaldéhyde, produit ultime de la peroxydation lipidique, est un dialdéhyde. Il peut, en se fixant à deux chaînes peptidiques différentes, entraîner des pontages qui peuvent participer, comme les liaisons amides et les ponts disulfures, à l'agrégation des protéines. Récemment il a été montré, dans le cas des protéines myofibrillaires, que ces phénomènes d'agrégation pouvaient entraîner une diminution de la reconnaissance des protéines par les protéases de la digestion (Santé-Lhoutellier *et al.*, 2008).

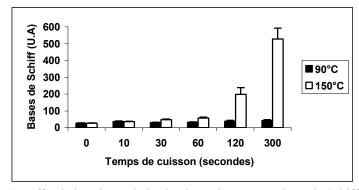


Figure 3 : Effet de la cuisson de la viande sur la teneur en base de Schiff (n=6)

#### Conclusions

Ces résultats montrent une oxydation importante des protéines lors de la cuisson de la viande à haute température avec des conséquences sur leur digestibilité qui restent à établir. Dans la suite de cette étude, l'effet de la cuisson sur des viandes renfermant plus ou moins d'acide gras insaturés et d'antioxydants sera évalué. L'effet d'autres chauffages (avec d'autres couples temps/température et d'autres aw) sera aussi testé.

#### Références bibliographiques

Gatellier Ph.., Gomez S., Gigaud V., Berri C., Le Bihan-Duval E., Santé-Lhoutellier V., 2007. Meat Sci., 76, 543-547.

Oliver C.N., Alin B.W., Moerman E.J., Goldstein S., Stadtman E.R., 1987. J. Biol. Chem., 262, 5488-5491.

Renerre M., Dumont F., Gatellier Ph., 1996. Meat Sci., 43, 111-121.

Santé-Lhoutellier V., Aubry L., Gatellier P., 2007. J. Agric. Food Chem., 55, 5343-5348.

Santé-Lhoutellier V., Astruc T., Marinova P., Grève E., Gatellier, P., 2008. J. Agric. Food Chem., 56 1788-1494. Stadtman E.R., 1990. Free Rad. Biol. Med., 8, 315-325.

Winterbourn C.C., 1990. Methods in Enzymology, 186, 265-272.

# L'AUGMENTATION DE LA DUREE DE DISTRIBUTION D'ALIMENTS RICHES EN ACIDE A-LINOLENIQUE SE REPERCUTE T-ELLE DANS LES TISSUS DU PORC ?

# GUILLEVIC M.<sup>12</sup>, FILLAUT M.<sup>1</sup>, KOUBA M.<sup>1</sup>, MOUROT J.<sup>1</sup> <sup>1</sup>INRA – Agrocampus, UMR 1079 SENAH, 35590 Saint-Gilles; <sup>2</sup> VALOREX SAS, 35210 Combourtillé

#### Introduction

Pour répondre aux souhaits de l'AFSSA qui recommande dans la dernière édition des apports nutritionnels conseillés (ANC, 2001) un apport quotidien de 2 g de C18:3 n-3, de nombreux produits carnés enrichis en acides gras (AG) n-3 ont été mis sur le marché. Les animaux monogastriques présentent une excellente corrélation entre les AG ingérés et les AG déposés au sein des tissus (Mourot et Hermier, 2001). C'est notamment le cas du porc, dont la viande est la plus consommée en France avec 34,8 kec/hab/an (OFIVAL, 2007). Il constitue donc un modèle de choix pour réaliser des interventions nutritionnelles. Pour obtenir un dépôt optimal de ces AG, l'apport de ces derniers, (durée de distribution et concentration en AG n-3 des aliments) est à maitriser et commence à être modélisée (Chilliard et coll., 2008). Nous proposons dans notre étude de faire varier l'apport en précurseur des AG n-3 en modulant la durée de distribution des régimes afin d'observer les conséquences sur la teneur et la composition en acides gras des tissus.

#### Matériels et méthodes

30 porcs mâles castrés ([Large-WhiteX Landrace] X Piétrain) ont été répartis en trois lots (n=10). Pour tester l'effet de la durée de distribution d'un régime riche en C18:3 n-3, 2 périodes sont comparées face à un régime témoin. Ainsi, en plus du lot témoin, on a constitué un lot ALA80 et un lot ALA50 pour lesquels les animaux recevaient le régime expérimental à partir de 80 kg ou 50 kg de poids vif, respectivement. Le régime expérimental et témoin étaient isolipidiques, isoénergétiques et isoprotéiques, seule la source de lipide était différente. Le régime ALA comportait 1,6 % de Valoméga® (70% lin extrudé Tradi-Lin® + 30% son de blé; Valorex, Combourtillé, France) et le régime témoin comportait 2 % d'un mélange d'huile de palme et de tournesol (v/v). Les porcs ont été sacrifiés au stade commercial d'abattage (105 kg de PV). Des prélèvements de bardière et de muscle long dorsal (LD) ont été réalisés à l'abattoir. Le lendemain, des côtes de porcs premières (CP) ont été prélevées à la découpe. Les lipides ont été extraits par la méthode de Folch et coll. (1957). Les acides gras ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse après dérivation au BF<sub>3</sub> méthanol (Morrison et Smith, 1964). Une analyse de variance a été effectuée en utilisant la procédure GLM de SAS avec la nature des régimes comme facteur principal. Les moyennes affectées d'une lettre différente sont significativement différentes au seuil de probabilité P<0.05.

#### Résultats et discussions

Sur la même période expérimentale (80 à 105 kg PV), les performances de croissance (P=0.08) ainsi que le rapport ingéré : gain de croît (P=0.21) n'ont pas été modifiés par les régimes expérimentaux. Les animaux des lots ALA80 et ALA50 ont reçu, respectivement, les régimes pendant  $29,1\pm3,4$  jours et  $58,3\pm5,9$  jours.

Les teneurs en lipide totaux du LD (1,6 à 1,8%) de la bardière (66,8 à 68,5%) ainsi que des côtes de porc (8,7 à 9,7%), n'ont pas été modifiées par les régimes expérimentaux (figure 1). La durée de distribution du régime riche en ALA, n'a pas modifié pas ces teneurs.

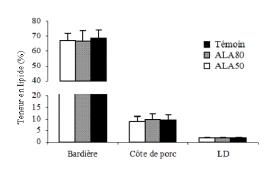


Figure 1. Teneur en lipide de la bardière, du muscle LD et de la côte de porc.

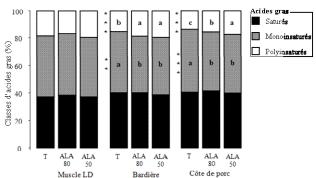


Figure 2. Familles d'acides gras du LD, de la bardière et de la côte de porc.

La teneur en AG saturés n'a été modifiée ni par les régimes, ni par la durée de distribution dans les 3 tissus étudiés (figure 2). Dans le cas des AG monoinsaturés (AGM), il y a, pour la bardière (P<0,01) et la côte de porc (P<0,001), une diminution de leur proportion lorsque le régime est riche en ALA (bardière : 44,4 à 41,1 – 41,5%; CP : 45,7 à 42,8 – 43,1%). La durée de distribution du régime riche en ALA ne modifie pas la proportion en AGM. Enfin, pour les AG polyinsaturés, il y a une augmentation de leur proportion pour la bardière (P<0,001; 15,2 à 18,7 – 19,7%) et la côte de porc (P<0,001; 13,6 à 15,4 – 17,3%). L'augmentation de la durée de distribution du régime ALA permet d'avoir, au niveau de la côte de porc, une hausse significative de 12,1% des AGPI (P<0,001; 15,42 à 17,29%).

Le régime riche en ALA modifie le rapport C18:2 n-6 / C18:3 n-3 en le diminuant (P<0,001) quels que soient les tissus (figure 3). Il existe un rapport inverse entre la durée de distribution du régime ALA et ce rapport LA/ALA dans la bardière (P<0,001) et la côte de porc (P<0,05).

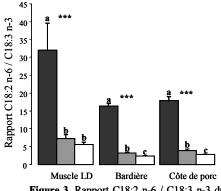


Figure 3. Rapport C18:2 n-6 / C18:3 n-3 du LD, de la bardière et de la côte de porc.

Dans le cas des AG n-6, la teneur en précurseur n'est pas augmentée dans les 3 tissus étudiés (tableau 1). Pour le C20:4 n-6 dans le TASCD, sa teneur est diminuée (P<0,001) avec le régime ALA50. Cette baisse est due à la compétition des AG n-3 et n-6 sur les enzymes désaturases. Un fort apport d'AG n-3 diminue les voix de désaturation des AG n-6. Les pourcentages en AG n-3 totaux sont augmentés (P<0,001) lorsque le régime est riche en ALA, dans l'ensemble des tissus étudiés (tableau 1). Cette hausse se poursuit avec l'augmentation de la durée de distribution (LD +50%; Bardière +33%; CP +40%).

Cet enrichissement en d'AG n-3 débute du précurseur ALA jusqu'au dérivé DPA. C'est ici le cas pour le LD et la côte de porc. Dans le cas de la bardière, cette augmentation se poursuit jusqu'au DHA tout en restant fort limitée (0,03% à 0,05%).

**Tableau 1**. Composition en acides gras n-3 des tissus LD, bardière et côte de porc.

		Régime		Statistiques <sup>1</sup>		
	Témoin	ALA80	ALA50	ETR	R	
Long dorsal						
C18:2 n-6	13.55	11.39	12.88	2.60	NS	
C20:4 n-6	2.90	2.23	2.15	0.93	NS	
Σ n-6	16.78	13.90	15.31	3.57	NS	
C18:3 n-3	$0.42^{c}$	1.58 <sup>b</sup>	$2.28^{a}$	0.22	***	
C20:5 n-3	$0.17^{c}$	$0.37^{b}$	$0.65^{a}$	0.16	***	
C22:5 n-3	$0.42^{b}$	$0.49^{b}$	$0.76^{a}$	0.23	**	
C22:6 n-3	0.21	0.13	0.19	0.09	NS	
Σ n-3	$1.22^{c}$	$2.57^{b}$	$3.88^{a}$	0.62	***	
Bardière						
C18:2 n-6	13.20	13.01	12.58	1.26	NS	
C20:4 n-6	$0.18^{ab}$	$0.20^{ab}$	0.14 <sup>c</sup>	0.03	***	
Σ n-6	13.58	13.81	13.50	1.29	NS	
C18:3 n-3	0.81°	$3.98^{b}$	5.27 <sup>a</sup>	0.39	***	
C20:5 n-3	20:5 n-3 0.01°		$0.08^{a}$	0.02	***	
C22:5 n-3	C22:5 n-3 0.08°		$0.21^{a}$	0.02	***	
C22:6 n-3	2:6 n-3 0.03 <sup>ab</sup>		$0.05^{a}$	0.02	**	
Σ n-3	$0.93^{c}$	$4.21^{b}$	$5.62^{a}$	0.42	***	
Côte de porc						
C18:2 n-6	11.57	11.18	11.55	0.84	NS	
C20:4 n-6	0.61	0.43	0.62	0.30	NS	
Σ n-6	12.27	11.69	12.24	0.74	NS	
C18:3 n-3	0.65°	$2.90^{b}$	$4.16^{a}$	0.26	***	
C20:5 n-3	$0.04^{b}$	$0.08^{ab}$	$0.12^{a}$	0.04	***	
C22:5 n-3	$0.12^{b}$	$0.26^{a}$	$0.27^{a}$	0.07	***	
C22:6 n-3	0.06	0.04	0.06	0.04	NS	
Σ n-3	$0.86^{c}$	$3.28^{b}$	$4.60^{a}$	0.31	***	

AGS = acides gras saturés ; AGM = acides gras monoinsaturés ; AGPI = acides gras polyinsaturés

P<0.001; NS = non significatif

L'augmentation de la durée de distribution permet d'avoir plus d'AG n-3 totaux au sein des trois tissus. Cette augmentation, dans le LD et la bardière est significativement différente du précurseur ALA au dérivé DPA.

Nous avons pu montrer qu'augmenter la durée de distribution des régimes riches en précurseurs des AG n-3 permet d'une part d'augmenter le dépôt de celui-ci, mais aussi d'augmenter la synthèse de ses dérivés. C'est ici le cas de l'EPA et du DPA.

#### **Conclusions**

Nos résultats montrent tout d'abord qu'il est tout à fait possible d'augmenter la qualité nutritionnelle de la viande de porc par le biais de leur alimentation. Ensuite, en augmentant la durée de distribution de ces régimes, le dépôt de ces AG d'intérêts est supérieur au sein des différents tissus. Cette hausse ne se limite pas au précurseur ALA mais s'effectue aussi pour l'EPA et dans une moindre mesure, pour le DHA. Ainsi, pour une meilleure disponibilité des AG n-3 (précurseurs et dérivés) auprès consommateurs, nous recommanderions d'augmenter la période de distribution des régimes. Les voies de biosynthèse des dérivés des n-3 seront d'autant plus actives.

#### Références Bibliographiques

ANC, Apports Nutritionnels Conseillés pour la population française, 2001. AFSSA, Ed. Tec & Doc, Paris.

Chilliard Y., Bauchard D., Lessire M., Schmidely P., Mourot J. INRA Prod. Anim., 21(2008), 95-106.

Folch J., Lees M., Stanley G.H., J. Biol. Chem., 233 (1957), 311-320.

Morisson W. R., Smith L. M., J. Lipid Res., 5 (1964), 600-608.

Mourot J., Hermier D., Reprod. Nutr. Dev., 41 (2001), 109-118.

OFIVAL (2007). Le marché des produits laitiers, carnés et avicole en 2007 - La consommation en France. Edition février 2008. p13-14.

## Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier le personnel du moulin, de l'élevage, de l'abattoir ainsi que du laboratoire pour leur implication dans cette étude.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> ETR = écart type résiduel; R = effet régime; \* = P<0.05; \*\* = P<0.01; \*\*\*=

# ÉTUDE DE LA MIGRATION DES IONS LORS DU MARINAGE DE VIANDE DE BŒUF DANS DES SOLUTIONS D'ACIDE ACÉTIQUE ET/OU DE SEL

### KOHLI N., GROS J.B.

LGCB, Université Blaise Pascal, 24 av. des Landais, BP 206, 63174 Aubière cedex, France.

#### Introduction

Le marinage de la viande est un procédé de conservation traditionnel qui consiste à mettre la viande en contact avec une solution appelée marinade. Cette solution contient au moins un acide organique et un sel, mais la plupart du temps elle en contient plusieurs. Elle peut aussi contenir des matières grasses apportées sous forme d'huiles, des protéines animales ou végétales, des épices et des aromates. Au cours de ce procédé, il se produit une migration des composants de la marinade vers la viande, un échange d'eau et une migration d'éléments solubles ou dégradés par effet du marinage de la viande vers la solution. L'évolution du pH et de l'activité de l'eau dans la viande provoque des changements physicochimiques qui induisent la prolongation de sa durée de vie, l'amélioration de la qualité sensorielle et l'augmentation du rendement massique. Les échanges de matière entre la viande et la solution de marinage dépendent des propriétés thermodynamiques de la solution et de la viande, et des vitesses de migration des éléments se trouvant dans la solution, en particulier les ions.

L'objectif de ce travail est d'estimer ces échanges au cours du marinage de viande de bœuf en considérant que la migration des ions peut être décrite pour chaque ion par un coefficient de diffusion effectif.

#### Matériels et Méthodes

La viande de bœuf (muscle semi-membraneux) provient d'un seul animal d'espèce charolaise. Elle a été fournie par l'INRA de Theix (unité QuaPa), congelée sous forme de tranches d'environ 3 mm d'épaisseur. Le pH ultime moyen est de 5,47.

Une cellule de diffusion a été conçue pour déterminer les coefficients de diffusion. Elle est composée de deux compartiments séparés par la viande, immobilisée dans un cylindre. Le premier compartiment contient 250 mL de la solution de marinage tandis que le deuxième contient le même volume d'eau déminéralisée. Les deux compartiments sont sous agitation à 23°C  $\pm$  2°C. La tranche de viande est décongelée à température ambiante et immobilisée dans le cylindre qui assure l'étanchéité entre les deux compartiments ; le transfert s'effectue alors à travers un disque de viande de 20,00  $\pm$  0,05 mm de diamètre. Le temps  $t_0$  correspond au temps auquel on verse les solutions dans chacun des compartiments.

Les solutions de marinage étudiées sont les solutions binaires et ternaires suivantes: eau déminéralisée + acide acétique à 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> d'eau, eau déminéralisée + chlorure de sodium à 80 g.kg<sup>-1</sup> d'eau ou eau déminéralisée + acide acétique à 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> d'eau + chlorure de sodium à 80 g.kg<sup>-1</sup> d'eau.

L'évolution de la concentration des ions  $H^+$ ,  $Cl^-$  et  $CH_3COO^-$  dans le deuxième compartiment en fonction du temps a été suivie respectivement par la mesure du pH (électrode à gel Mettler Toledo, InPro 3030/225), calibrée à pH 7,0 et 4,0 à 23°C), par une électrode sélective à  $Cl^-$  (HI 4107 Chloride Ion Selective Electrode, Hanna instruments) et par chromatographie liquide haute pression (chaine Agilent 1100, deux colonnes d'exclusion ionique Phénomenex Rezex ROA 300 x 7.8 mm montées en série dans un four thermorégulé à 50°C, phase mobile  $H_2SO_4$  2mM avec un débit de 0,7 mL.min<sup>-1</sup>, détection par réfractométrie, logiciel HPChem).

Les diffusivités sont déterminées à partir de la zone linéaire des courbes obtenues (fig.1) par la relation :

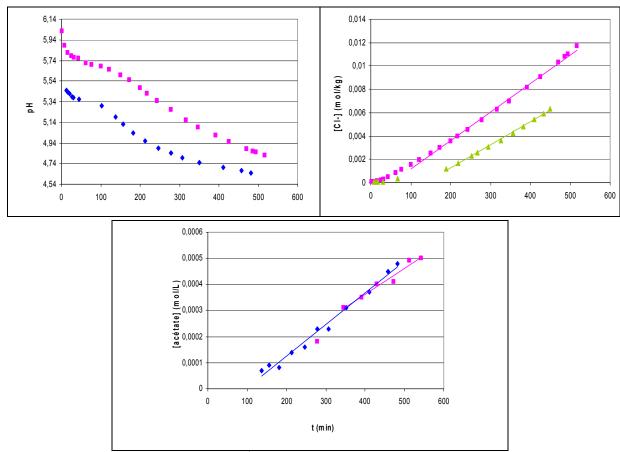
$$C_2 = \frac{D_e C_{10} S}{V_2 h} t$$

 $C_2$  et  $C_{10}$  sont respectivement les concentrations de l'ion suivi dans le deuxième compartiment et dans la solution d'immersion,  $D_e$  est la diffusivité effective de l'ion, S et h représentent la surface et l'épaisseur de la tranche de viande,  $V_2$  est le volume du deuxième compartiment, et t représente le temps.

#### Résultats et discussion

La figure 1 montre l'évolution du pH et des concentrations en ions  $Cl^-$  et  $CH_3COO^-$  en fonction du temps dans le second compartiment de la cellule de diffusion. La courbe de l'évolution du pH est transformée afin d'obtenir l'évolution de la concentration en ions  $H^+$  en fonction du temps. Les valeurs des coefficients de diffusion obtenus sont résumées dans le tableau 1.

La diffusivité du chlorure de sodium dans la viande est de 7,0x10<sup>-10</sup> m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>. Ce résultat est en accord avec les



**Figure 1:** Suivi de la migration des ions H<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> et CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup> en fonction du temps à travers la viande, pour différentes solutions d'immersion : (◆) 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> d'acide acétique, (▲) 80 g.kg<sup>-1</sup> de NaCl et (■) 0,1 mol.kg<sup>-1</sup> d'acide acétique + 80 g.kg<sup>-1</sup> de NaCl.

Composition de la solution	$D_e (10^{-10} \text{ m}^2.\text{s}^{-1})$
Chlorure de sodium (80 g.kg <sup>-1</sup> )	
Ions Cl <sup>-</sup>	$7.0 \pm 0.3$
Acide acétique (0,1 mol.kg <sup>-1</sup> )	
Ions H <sup>+</sup>	$16.8 \pm 9.0$
Ions CH <sub>3</sub> COO	$4.3 \pm 0.7$
Chlorure de sodium (80 g.kg <sup>-1</sup> ) et acide acétique (0,1 mol.kg <sup>-1</sup> )	
Ions Cl	$4.8 \pm 0.2$
Ions H <sup>+</sup>	$5,3 \pm 1,5$
Ions CH₃COO⁻	$3.3 \pm 0.8$

**Tableau 1 :** Influence de la composition de la solution de marinage sur les valeurs des coefficients de diffusion des ions dans la viande.

valeurs publiées ; ainsi Vestergaard et *al.* (2007) observent une diffusivité moyenne du chlorure de sodium dans la viande de porc de  $6,4.10^{-10}$  m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup> à  $21^{\circ}$ C (les valeurs sont comprises entre  $5.10^{-10}$  m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup> et  $7.10^{-10}$  m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup> selon la concentration en sel). Il n'y a pas de résultats publiés pour l'acide acétique.

En solution ternaire, il n'y a pas de résultats publiés sur la viande. Cependant une étude sur le marinage du hareng en solution ternaire d'acide acétique (7% massique) et de chlorure de sodium (14%) réalisée par Rodger et *al.* (1984) fait état de coefficients de diffusion de 1,1.10<sup>-10</sup> m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup> et de 2,3.10<sup>-10</sup> m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup> pour le chlorure de sodium à 2°C et 20°C, et pour l'acide acétique de 2,6.10<sup>-10</sup> et 4,5.10<sup>-10</sup> m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup> à 10°C et 20°C respectivement.

Ces résultats préliminaires confirment la forte dépendance de la composition en ions de la solution sur les vitesses de migration, phénomène dont il faudra tenir compte pour contrôler les teneurs en sel et le pH des produits finis.

### Références bibliographiques

Rodger G., Hastings R., Cryne C., Bailey J., 1984. Journal of Food Science, 49, 714-720. Vestergaard C., Andersen B.L., Adler-Nissen J., 2007. Meat Science, 76, 258-265.

# IMPACT DE LA NATURE DES ACIDES GRAS DANS L'ALIMENTATION DES PORCS SUR LA QUALITE DES PRODUITS DE CHARCUTERIE.

Partie 2 : Effet sur le profil sensoriel et l'acceptabilité des produits

# LE MINOUS A.E.<sup>1</sup>, DE BROUCKER T.<sup>1</sup>, BLOCHET J.E.<sup>2</sup>, GUILLEVIC M.<sup>3</sup>, MOUROT J.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ADRIA développement, 29196 Quimper ; <sup>2</sup> ZOOPOLE développement, 22440 Ploufragan ; <sup>3</sup> INRA - UMR 1079 SENAH, 35590 St-Gilles

#### Introduction

Les facteurs d'élevage permettent de modifier les qualités nutrionnelles des produits animaux comme il a été montré dans la partie 1 de cette étude. Mais la modification des profils d'acides gras peut aussi avoir un impact favorable ou non sur la qualité sensorielle du produit. Peu de données sont actuellement disponibles sur ce sujet en relation avec les acides gras n-3. Du fait de la présence accrue des acides gras n-3, la cuisson ou la transformation peuvent entraîner une peroxydation des acides gras et donc modifier l'aspect visuel et gustatif du produit. La cuisson ne modifie pas le profil en acides gras de la viande comme il a été montré chez le porc (Mourot et al, 2006) et récemment chez le lapin (Kouba et al, 2008). Les acides gras à longue chaîne de la série n-3 semblent se retrouver préferentiellement dans les membranes des cellules (Avezard et al, 2008, même JSMTV), ce qui peut les protéger de la destruction au cours de la transformation.

Afin de s'assurer de l'acceptabilité par les consommateurs des produits enrichis en acides gras n-3, il convient d'apprécier la qualité sensorielle des produits. L'objectif de cette étude est de déterminer l'impact de la nature des acides gras présents dans la viande sur le profil sensoriel des produits élaborés par les industriels et sur l'acceptabilité des consommateurs.

#### Matériels et méthodes

La viande qui a servi à la transformation des produits est issue des animaux provenant de l'étude de Guillevic et al, 2008 même JSMTV). La viande des 3 lots (palme comme régime standard, tournesol, et graines de lin) a été transformée. Les produits élaborés par les industriels sont le jambon blanc, la poitrine fumée, le pâté de campagne. Les matières premières rentrant dans l'élaboration des produits charcutiers ont été confiées aux industriels qui ont réalisé les produits finis selon leurs recettes internes.

Les produits élaborés ont été par la suite remis au laboratoire ADRIA senso pour le test consommateurs et la caractérisation sensorielle par un jury expert. Le test consommateurs a été réalisé auprès de 60 consommateurs, en situation contrôlée. Les produits ont été présentés en monadique séquentiel, l'ordre de présentation suivant un plan en bloc complet équilibré. Les consommateurs se sont prononcés sur leur appréciation globale des produits (échelle en 7 points), intentions de re-consommation (échelle en 3 points), et à travers une question ouverte sur ce qui leur a plu et déplu dans le produit Les données ont été traitées à l'aide de statistiques descriptives (moyennes, écart-types), inférentielles (analyse de variance et test de Newman Keuls) pour les appréciations globales, par des tests de Chi2 pour l'intention de re-consommation.

Le travail du jury (12 membres) expert répond aux bonnes pratiques (NF ISO 8586, programme 133, NF V 09-015).

# **Résultats**Test consommateurs

		standard	tournesol	lin	
Jambon blanc	Appréciation globale	$4.2 \pm 1.6 \text{ A}$	$4.5 \pm 1.3 \text{ A}$	$4.0 \pm 1.5 \text{ A}$	
Jainioon olanc	% d'intention de re-consommation	53	63	53	
	Intervalle de confiance	13%	12%	13%	
	Différence significative	oui	oui	non	
	Différence significative par rapport au produit le plus re-consommé ?	A	A	A	
Poitrine fumée	Appréciation globale	$3.9 \pm 1.6 \text{ A}$	$3.7 \pm 1.6 \text{ A}$	$3.7 \pm 1.8 \text{ A}$	
r orume rumee	% d'intention de re-consommation	40	37	35	
Intervalle de confiance		13%	12%	12%	
	Différence significative	non	non	non	
	Différence significative par rapport	A	A	A	
	au produit le plus re-consommé?				
Pâté de	Appréciation globale $\alpha < 0.1\%$	$4.5 \pm 1.5 \text{ A}$	$4.5 \pm 1.5 \text{ A}$	$3.1 \pm 1.7 \text{ B}$	
rate de	% d'intention de re-consommation	57	48	27	
campagne	Intervalle de confiance	13%	13%	11%	
	Différence significative	oui	oui	oui	
	Différence significative par rapport au produit le plus re-consommé ?	A	A	В	

#### Jury experts

Le profil sensoriel réalisé sur le **jambon** montre que 3 descripteurs sur 46 sont discriminants au risque de 5% : intensité de la couleur rose, homogénéité de la couleur, contraste de la couleur.

Les trois jambons sont très proches d'un point de vue sensoriel, puisque seuls trois descripteurs sont discriminants. Sur ces derniers, l'analyse de variance permet de mettre en avant des caractéristiques propres à chaque produit. Le jambon LIN a une couleur significativement plus contrastée que le jambon TOURNESOL. Le jambon TOURNESOL a une couleur significativement plus homogène que les deux autres jambons. Le jambon STANDARD a une couleur rose significativement plus intense que les deux autres jambons.

Le profil sensoriel réalisé sur la **poitrine fumée** montre que 8 descripteurs sont discriminants, sur les 48 du glossaire, au risque de 5% : aspect avant cuisson (couleur blanche du gras et la bordure jaune, marron), aspect après cuisson (quantité de gras et l'aspect grillé), odeur après cuisson (de fumée et de viande grillée), goût fumé, texture gras en bouche.

L'analyse de variance permet de mettre en avant des caractéristiques propres à chaque produit. La poitrine fumée LIN a une couleur du gras significativement plus blanche (avant cuisson) que les deux autres. La poitrine fumée TOURNESOL est plus grillée, a une odeur fumée et de viande grillée (après cuisson) plus intense que les deux autres et un goût plus fumé que la poitrine LIN, toutes ces variations étant significatives. La poitrine STANDARD a une bordure jaune significativement plus importante avant cuisson que les deux autres, une quantité de gras significativement supérieure (après cuisson) à la poitrine LIN et significativement plus de gras en bouche (texture) que les deux autres.

Pour le **pâté de campagne**, au risque de 5%, 8 descripteurs sont discriminants sur les 44 du glossaire, à savoir : aspect (couleur beige et la présence de gelée périphérique), odeur (intensité de l'odeur globale), goût (salé et le goût d'oignons), texture (ferme, collante et fondante)

L'analyse de variance permet de mettre en avant des caractéristiques propres à chaque produit :

- le pâté de campagne LIN a une odeur globale significativement plus intense que les deux autres pâtés, un goût significativement moins salé que les deux autres pâtés, un goût d'oignons significativement plus intense que le pâté STANDARD, ainsi qu'une texture significativement plus ferme et moins collante que les deux autres pâtés.
- le pâté TOURNESOL a une texture significativement plus fondante que le pâté LIN.
- le pâté STANDARD a une couleur beige significativement plus importante que le pâté LIN, il a une présence de gelée périphérique significativement plus importante que le pâté TOURNESOL.

#### Conclusion

Deux produits sur trois sont appréciés à niveau égal par les consommateurs. Seules les caractéristiques du pâté de campagne semblent affectées par le régime des animaux.

D'autres essais ont été menés en parallèle pour caractériser les qualités techno-fonctionnelles des matières premières (partie 3). Des éléments peuvent être mis en regard des descripteurs discriminants sur ce produit. A titre d'exemple, un régime à base de lin modifie fortement les propriétés fonctionnelles des viandes de porc. Nous avons pu noter une augmentation de la solubilité des protéines, de la capacité émulsifiante et de la rétention d'eau des viandes, une diminution des propriétés gélifiantes des viandes, une augmentation de la capacité de rétention d'eau par le foie, une diminution de la rigidité du gras de bardière.

Le régime lin a des conséquences technologiques différentes selon la pièce de porc utilisée : protéines jouant un rôle de cohésion plus faible entre les morceaux de viandes ou de gras dans des procédés de fabrication de type charcuterie fine ou pâté.

L'aspect sec avant ou après mastication est plus marqué sur les produits de charcuterie issus de porcs nourris au lin. Ce constat peut être expliqué par l'augmentation des propriétés de rétention d'eau provoquée par ce régime sur les muscles semi-membranosus et longissimus dorsi et sur le foie. L'eau est mieux maintenue dans le produit et se retrouve moins en surface. En effet, ce paramètre sensoriel est lié à la perception d'eau dégagée pendant la mastication et à la capacité du produit d'absorber la salive.

Ces données doivent être consolidées en augmentant terme de nombre d'animaux étudiés.

Si ces tendances étaient confirmées, l'axe attributs visuels mériterait d'être investigué plus avant.

### Références bibliographiques

ANC, Apports Nutritionnels Conseillés pour la population française, 2001. AFSSA, Ed. Tec & Doc, Paris.

Kouba M., Benatmane F., Blochet J.E., Mourot J. 2008 Meat Sci, in press

Mourot J., Hermier D., 2001. Lipids in monogastric animal meat. Reprod. Nut. Dev., 41, 109-118.

Mourot J., Guillevic M., Mounier A., Kerhoas N., Weill P. 2006, 11 ème Journées des Sciences du Muscle et Technologie des Viandes 4 et 5 Octobre 2006 Clermont-Ferrand, (poster), Viande et Produits Carnés, Hors série 2006 p 99-100

# EFFET DE LA COMPETITION ENTRE L'ACIDE ALPHA-LINOLENIQUE (ALA) ET L'ACIDE LINOLEIQUE (LA) SUR LA COMPOSITION EN ACIDES GRAS DU TISSU ADIPEUX SOUS-CUTANE ET DU MUSCLE CHEZ LE PORC CHARCUTIER

#### MAIRESSE G., FILLAUT M., MOUROT J.

INRA, UMR 1079 SENAH, F-35000 Rennes, France

#### Introduction

La réduction du rapport en acides gras polyinsaturés (**AGPI**) n-6 et n-3 dans l'alimentation humaine est un enjeu de santé. Ce rapport s'établit actuellement entre 13 et 15 alors que l'AFSSA recommande un rapport de 5 (AFSSA, 2001). La viande de porc est la viande la plus consommée en France (35 kg EC carcasse/hab/an en 2007). Son enrichissement en AGPI n-3 constitue donc un moyen efficace pour contribuer aux valeurs recommandées par l'AFSSA.

Les acides alpha-linolénique (**ALA**) et linoléique (**LA**) sont les précurseurs de la voie de synthèse des AGPI n-3 et n-6, respectivement. Ces précurseurs, apportés par l'aliment, entrent en compétition au niveau enzymatique (et notamment sur la Δ6-désaturase). Ainsi, le ratio LA/ALA de l'aliment pourrait avoir un effet sur les profils en acides gras de viande de porc. C'est l'objectif de cette étude préliminaire qui s'est focalisée sur deux tissus : un tissu gras (bardière) et un tissu musculaire (muscle semimembraneux, **SM**).

#### Matériel et méthodes

Cinq lots de 12 porcs ont été constitués (femelles/mâles castrés 1:1, poids initial 51.7±2.2 kg), placés en loge individuelle et nourris ad libitum avec l'un des 5 régimes expérimentaux présentés dans le Tableau 1. Ces régimes sont composés d'un aliment standard (lipides = 2%) auguel a été rajouté différentes sources végétales lipidiques à hauteur de 2%. Ils sont iso-lipidiques (4.0%), et isoénergétiques (énergie digestible = 16.3MJ/kg). Les régimes L (source de lipides apportés par 100% graines de lin extrudées, Tradi-Lin®, Valorex, France), P+L (graine de lin extrudées, huile de palme: 50/50) et P (100% huile de palme) possèdent des teneurs similaires en LA mais différentes en ALA. Les régimes P, P+T (huile de palme, huile de tournesol: 50/50) et T (100% huile de tournesol) possèdent des teneurs en LA différentes mais similaires en ALA.

**Tableau 1**: Profil en acides gras des aliments expérimentaux (en % des acides gras totaux).

	L	P+L	P	P+T	T
C16:0	11.5	20.9	31.2	21.3	11.4
C18:0	2.9	3.2	3.5	3.2	3.1
C18:1	17.0	23.2	30.1	27.5	25.1
C18:2n-6 (LA)	34.5	32.1	30.1	43.0	55.7
C18:3n-3 (ALA)	32.4	18.5	2.6	2.7	2.6
AGS	14.9	25.0	36.0	25.5	15.2
AGM	17.6	23.9	30.8	28.2	25.7
AGPI	67.5	51.1	33.2	46.3	59.1
n-6 AGPI	34.8	32.4	30.3	43.4	56.2
n-3 AGPI	32.6	18.6	2.8	2.9	2.8
n-6/n-3	1.1	1.7	10.8	15.0	19.9
LA/ALA	1.1	1.7	11.5	16.0	21.1

Les porcs ont été abattus par électronarcose (poids final = 110.5±6.5 kg), découpés puis des échantillons de bardière et de SM ont été conservés jusqu'à analyses à -20°C. Les lipides totaux ont été extraits selon la méthode de Folch et al. (1957). Les profils en acides gras ont été déterminés en Chromatographie en Phase Gazeuse après saponification et méthylation (Morrison et Smith, 1964). Le traitement statistique des résultats a été réalisé par analyse de variance (SAS, procédure GLM, ANOVA 1, test de Bonferroni, seuil de probabilité à 5%).

#### Résultats et discussion

Aucun effet des régimes n'a été observé sur les performances de croissance des animaux, sur l'indice de consommation et sur les teneurs en lipides totaux de la bardière et du SM.

#### Bardière

La diminution du ratio LA/ALA dans les régimes par l'ajout d'ALA (régimes L et P+L) entraine une augmentation significative (p<0.05) des teneurs en ALA, **EPA** (C20:5n-3), **DPA** (C22:5n-3) dans la bardière (**Figure 1**), mais pas du **DHA** (C22:6n-3). Ces résultats sont conformes à d'autres études (Wilfart et al., 2004; Corino et al., 2008). L'accroissement des teneurs en LA dans l'aliment sans modification des teneurs en ALA (régimes P, P+T et T) induit une augmentation significative de la teneur en LA dans la bardière comme observé par Kouba et Mourot (1999). De plus, l'**ARA** (C20:4n-6) ne présentent pas de différence entre les régimes P, P+T et T. Il apparaît donc que l'accroissement des rapports LA/ALA dans l'aliment affecte d'autant plus le profil en acides gras de la bardière que cette augmentation concerne l'ALA dans la ration.

■L ®P+L □P ■P+T ØT 25.0 50.0 50.0 20.0 40.0 40.0 % AG totaux 15.0 30.0 30.0 20.0 10.0 20.0 10.0 10.0 5.0 0.0 0.0 0.0 C16:0 C18:0 AGS C18:1(n9) LA C20:3(n6) ARA n-6 tot ■L NP+L □P ■P+T ØT 12.00 30.0 10.00 AG totaux 25.0 8.00 20.0 6.00 15.0 4.00 10.0 2.00 ns 5.0 0.00 0.0 **EPA** DPA DHA AGPI n-3 tot n-6/n-3

Figure 1 : Profil des principaux acides gras de la bardière (en % des acides gras totaux).

Muscle semimembraneux

D'une manière générale, les effets des régimes alimentaires sur le profil en acides gras dans le SM sont moins importants que dans la bardière (Figure 2). L'ajout d'ALA dans la ration induit une augmentation significative des proportions des différents acides gras n-3, excepté le DHA. De plus, l'ajout de LA dans les régimes contenant des teneurs similaires en ALA (régimes P, P+T et T) induit une augmentation significative de la part de LA dans le muscle tandis que les autres dérivés n-6 et n-3 n'augmentent pas (p>5%).

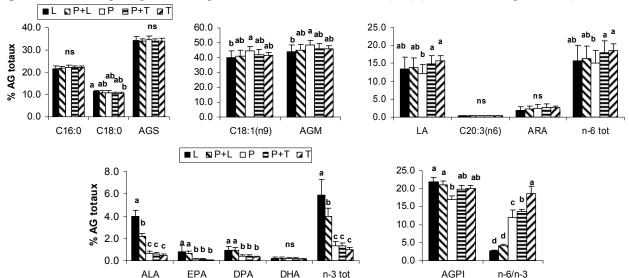


Figure 2 : Profil des principaux acides gras du muscle semimembraneux (SM) (en % des acides gras totaux).

### Conclusion

Le ratio LA/ALA dans l'aliment a un effet sur les profils en acides gras du tissu adipeux et musculaire du porc. L'ajout de LA dans les régimes induit une augmentation significative du LA dans les tissus, les autres dérivés n'étant pas affectés. L'ajout d'ALA dans la ration induit une augmentation de la synthèse des AGPI n-3 dans les 2 tissus.

## Références

AFSSA, 2001. AFSSA, CNERVA, CNRS. Coord. A. Martin., Paris, éditions Tec & Doc, 650 p.

Corino C., Musella M., Mourot J., 2008. J Anim Sci. 86, 1-11.

Folch J., Lees M., Sloane Stanley G. H., 1957. J. Biol. Chem. 226, 497-509.

Kouba M., Mourot J., 1999. Meat Sci. 5, 39-45.

Morisson W., Smith L., 1964. J. Lipid Res. 5, 600-608.

Wilfart A., Ferreira J.M., Mounier A., Robin G., Mourot J., 2004. 36ème Journées de la Recherche Porcine, 195-202.

# UN APPORT D'ANTIOXYDANTS ALIMENTAIRES CHEZ LE BOVIN EN FINITION PEUT AMELIORER LA STABILITE DE COULEUR DES VIANDES, MEME CHEZ DES ANIMAUX AYANT SUBI UN STRESS AVANT L'ABATTAGE

# PARAFITA-THOMAS E. <sup>1</sup>, VIALTER S. <sup>1</sup>, GOBERT M.<sup>2</sup>, DURAND D.<sup>2</sup>, TERLOUW C. <sup>3</sup>, BAUCHART D. <sup>2</sup>, PEYRON A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ADIV, 63039 Clermont-Ferrand, France, <sup>2</sup>Equipe Nutriments Et Métabolisme, <sup>3</sup>Equipe Adaptation et Comportements Sociaux, UR 1213 Herbivores INRA de Theix, 63122 St-Genès-Champanelle, France

#### Introduction

D'après les apports nutritionnels conseillés (ANC) chez l'homme, la teneur en acides gras de type saturé doit être réduite au profit des acides gras polyinsaturés (AGPI) dans le but de réduire le risque de maladies cardiovasculaires et de certains cancers. La qualité nutritionnelle des viandes de ruminant peut être améliorée par l'apport d'acides gras polyinsaturés (AGPI) dans la ration au cours de la période de finition. Néanmoins, cet enrichissement en AGPI rend la viande plus sensible aux phénomènes d'oxydations (Durand et al., 2002 et Gladine et al., 2007), au niveau des lipides mais aussi des protéines comme la myoglobine (Lynch et al, 2002). Ceci n'est pas sans conséquence puisque la couleur peut être altérée. En effet, l'oxymyoglobine, de couleur rouge vif se transforme en metmyoglobine sous l'effet des oxydations. Cette metmyoglobine, responsable de la couleur brune de la viande entraîne, au-delà d'un certain seuil, un rejet du produit par le consommateur. Ainsi au dessus de 20% de metmyoglobine, les ventes diminuent d'un facteur 2. (Renerre & Mazuel, 1985). Ces phénomènes d'oxydation qui se produisent dans la viande peuvent être générés par différents facteurs comme le stress pré-abattage (Chirase et al., 2004) ou encore par des facteurs technologiques comme le conditionnement des viandes (Jakobsen & Bertelsen, 2000 et Durand et al., 2006). L'objectif de notre étude est d'une part, de vérifier si les bénéfices nutritionnels liés à l'apport d'AGPI n'altèrent pas la couleur des viandes conditionnées issues d'animaux ayant subi un stress et d'autre part, de tester l'effet protecteur de différents antioxydants apportés directement dans l'alimentation au cours de la période de finition.

#### Matériel et Méthodes

Animaux et traitements. Notre étude a été réalisée chez 16 vaches de réforme de race Normande (4 ans, 642 kg de poids vif) au cours d'une période de finition de 100 jours. Les animaux répartis en 6 lots ont reçu des rations à base d'aliment concentré et de paille (70/30) i) non supplémentée (T, n=5), ii) supplémentée avec des graines de lin extrudées (4% de lipides/kg MS) (L), iii) supplémentée avec des graines de lin et de la vitamine E (vit E) (LE, n=3),iii) avec des graines de lin, de la vitamine E et des extraits végétaux riches en polyphénols (EVRP) provenant de romarin, d'agrumes, de raisins et de tagette (10 g/kg MS) (LEP). En fin de période d'engraissement, 5 animaux des lots L et LEP ont été abattus avec un stress "minimisé" réalisé par un court trajet jusqu'à l'abattoir et la présence d'un congénère dans la bétaillère (L, n=5; LEP, n=5). Les autres animaux ont été soumis à un stress physique (parcours de 30 minutes et trajet en bétaillère de 30 minutes) et émotionnel (isolement des congénères, présence de l'Homme) juste avant l'abattage (LS, n=5; LEPS, n=5).

**Transformations des viandes.** Les muscles *Longissimus thoracis* et *Semitendinosus* ont été collectés à l'abattage, maturés sous-vide pendant 12 jours en chambre froide (+4°C), puis détaillés en steaks comme réalisé dans le commerce. Les différentes pièces de viande ont été conservées à +4°C et éclairées sous lumière fluorescente afin de reproduire les pratiques de la grande distribution ; des échantillons ont été conservés pendant 4 jours en barquette sous-film (**SF**), ou pendant 7 jours sous-atmosphère modifiée (**SA**) avec un mélange de 70% d'O<sub>2</sub> et 30% CO<sub>2</sub> ou pendant 14 jours sous-vide (**SV**).

**Mesures effectuées.** Les mesures de couleur ont été réalisées par un spectromètre de type UVIKON 933. A partir des spectres de réflexion dans le visible (360 à 760nm), toutes les caractéristiques de couleur (indice de rouge a\*, de jaune b\*, de luminosité L\*, définies par le système C.I.E.L.A.B., ont été déterminées. Les différences de réflectances nous ont permis de calculer l'indice d'oxygénation et le pourcentage de metmyoglobine (**MetMB**).

Analyses statistiques. Pour chaque type de conditionnement, l'effet combiné de l'alimentation et du stress (noté effet alimentation±stress) a été testée par analyse de variance sur l'ensemble des échantillons. Le seuil de significativité a été défini à 5%.

#### Résultats et Discussion

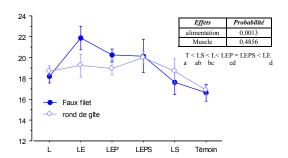
<u>Dans le cas d'un conditionnement sous vide</u>, aucun effet de l'alimentation ± stress n'a été mis en évidence et ce quel que soit le paramètre pris en compte (a\* p= 0,5772, indice d'oxygénation p=0,7010, % de MetMB p=0,9130).

<u>Dans le cas d'un conditionnement sous film</u>, seul l'indice de rouge présente des différences statistiquement significatives selon le type de régime et l'application ou non d'un stress. (Cf. figure 1a). Les viandes issues d'animaux ayant reçu une supplémentation en graines de lin (L, LS, LE, LEP, LEPS) ont un indice de rouge supérieur à celles non

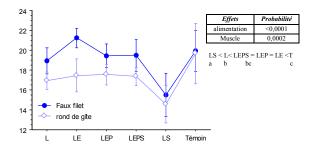
supplémentées (T). Cet indice indique un taux de myoglobine plus important et un niveau d'oxydation plus bas. De plus, les animaux ayant reçu de la vitamine E seule ou en complément d'antioxydant, ayant subi un stress (LEPS) ou non (LE, LEP), sont significativement plus rouges que les animaux stressés n'ayant reçu que du lin (LS).

Dans le cas d'un conditionnement sous atmosphère modifiée, l'alimentation combinée à l'application ou non d'un stress a un effet hautement significatif sur l'indice de rouge (p<0,001), l'indice d'oxygénation (p<0,0001) et le pourcentage de metmyoglobine (p<0,0001) (Cf. figure 1 b, c, d). Dans l'ensemble, ce type de conditionnement permet de mieux oxygéner la myoglobine ce qui se traduit par un indice de rouge et un indice d'oxygénation plus élevés que pour le conditionnement sous film sauf dans le cas des animaux stressés n'ayant reçu que du lin. En effet, ces derniers ont pourcentage de metmyoglobine significativement plus élévé (p>0,0001). Cependant, quel que soit l'indicateur (indice de rouge, indice d'oxygénation ou %MetMB), l'apport d'antioxydant permet de revenir à un niveau au moins égal au témoin et donc d'inhiber ces phénomènes d'oxydations liés au stress(LEPS vs LS).

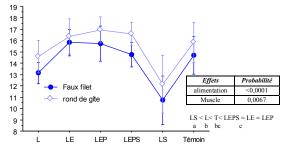
Figure 1 : Effet de l'alimentation et du stress pré-abattage sur la couleur



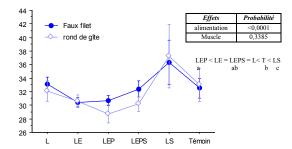
a) Sur l'indice de rouge, cas d'un conditionnement sous film



 Sur l'indice de rouge, cas d'un conditionnement sous atmosphère modifiée



 c) Sur l'indice d'oxygénation, cas d'un conditionnement sous atmosphère modifiée



d) Sur le % de metmyoglobine, cas d'un conditionnement sous atmosphère modifiée

#### Conclusions

Cette étude montre que l'apport de vitamine E seul ou en complément d'antioxydant d'origine végétale permet d'améliorer l'indice de rouge et même l'indice d'oxygénation ainsi que le taux de metmyoglobine dans le cas d'un conditionnement sous atmosphère modifiée. Le stress génère une oxydation qui modifie la couleur des viandes enrichies en AGPI (LIN) dans le cas d'un conditionnement sous atmosphère modifiée. L'apport de vitamine E et d'antioxydant permet d'éviter l'effet délétère du stress et de revenir à un niveau au moins égal au témoin. Nos résultats obtenus sont en parfait accord avec ceux obtenus par mesures biochimiques des produits de peroxydation (Gobert et al., 2008)

#### Références

Durand et al. (2002)  $9^{\text{ème}}$  JSMTV, hors série VPC,oct p75  $\bullet$  Gladine et al., (2007) *JAS* , soumis  $\bullet$  Lynch et al. (2002)  $\bullet$  Renerre & Mazuel, (1985) *Sci Alim* 5 , 541-557  $\bullet$  Chirase N.K. et al. 2004. Am. J. Veterinary Res. 65: 860-864.  $\bullet$  Jakobsen &Bertelsen, (2000), Meat Science, 54(1),49-57.  $\bullet$  Durand et al., (2006)11  $^{\text{èmes}}$  JSMTV, Hors série VPC, oct p79 $\bullet$  Gobert et al., (2008): 12  $^{\text{èmes}}$  JSMTV, soumis

### Remerciements

Nous remercions l'équipe de l'Installation Expérimentale de l'INRA de Theix pour la conduite des animaux ; R. Jaillier et l'équipe de l'Abattoir Expérimental (INRA Theix) pour les abattages des animaux et la maturation des viandes ainsi que la société PHYTOSYNTHESE (Riom 63) pour la mise au point et la fourniture du mélange d'extraits végétaux riches en polyphénols. Nous remercions également l'équipe Biochimie et Physiologie du Muscle pour son soutien technique.

# ÉMULSIFICATION EN CONTINU DE FORMULATIONS MODÈLES A BASE DE PROTÉINES EXTRAITES DE POUMON DE BŒUF : EFFET DU XANTHANE ET DES CONDITIONS OPÉRATOIRES.

### SELMANE D., VIAL C., DJELVEH G.

LGCB, Université Blaise Pascal, 24 av. des Landais, BP 206, 63174 Aubière cedex, France.

#### Introduction

Depuis l'interdiction des farines animales, des quantités considérables d'abats viennent grossir le stock de déchets produits par la filière viande, alors que les besoins pour le petfood plafonnent. Par ailleurs, l'incinération de ces sous-produits conduit non seulement à un surcoût qui doit être supporté par la filière, mais elle aurait également un impact négatif sur l'environnement. De plus, la majorité de ces sous-produits a une teneur élevée en protéines, entre 15 et 20% (w/w), présentant une bonne valeur nutritionnelle, ainsi que des composés essentiels tels que des acides aminés, des hormones, des minéraux, des vitamines et des acides gras. Dans un précédent travail, nous avons extrait les protéines de poumons de bœuf et nous avons comparé les propriétés fonctionnelles de ces protéines avec des ingrédients commerciaux tels que les caséinates de sodium et les protéines de lactosérum, de blanc d'œuf et de soja. Les résultats ont montré que les protéines extraites de poumons de bœuf ont une activité et capacité émulsifiante meilleure que les autres protéines commerciales.

L'objectif de ce travail est d'étudier la capacité de ces protéines de former une émulsion en continu en utilisant un système rotor-stator. Pour cette étude, nous avons choisi d'utiliser une formulation modèle proche de celles utilisées dans des applications alimentaires, et notamment, d'étudier l'effet de la présence de polysaccharides (xanthane) dans la formulation. Afin de réduire le nombre d'expériences, nous avons opté pour une planification factorielle. Les paramètres étudiés sont : les teneurs en protéines et en xanthane, la vitesse d'agitation et le temps de séjour dans le système rotor-stator.

#### Matériels et Méthodes

Les protéines sont extraites du poumon de boeuf après décongélation à pH 9 en utilisant un mélangeur Stephan UMC5 (N= 1100 tpm, T =20°C et temps d'extraction 60 min). Les protéines solubles ont été concentrées par précipitation à pH 4, puis centrifugées à 5000g pendant 20 min. Les extraits obtenus ont été lyophilisés (Heto Power Dry PL6000-90, Thermo Electron, France).

Pour la préparation des émulsions, nous avons d'abord réhydraté les protéines en présence xanthane pendant une nuit. Pour chaque formulation 0.1% de chlorure de sodium et 0.02% d'azoture de sodium ont été ajoutés. Comme phase dispersée, nous avons utilisé l'huile de tournesol à 15% (w/v) qui est fréquemment utilisée dans préparations alimentaires.

Une installation de laboratoire constituée d'un système rotor-stator a été utilisée pour l'émulsification en continu. Le diamètre du stator est de 35 mm. Le rotor et le stator sont munis de sept rangées de six dents à bouts carrés (7,5×4×4 mm). L'entrefer entre le rotor et le stator est de 2,5 mm. Le système est muni d'une double enveloppe dans laquelle circule un réfrigérant, qui permet de maintenir la température constante. Afin de mesurer la taille et la distribution de taille des gouttelettes d'huile dans les émulsions, nous avons utilisé une technique d'analyse d'images reposant sur la microscopie optique. La méthode, développée au LGCB, est originale car elle permet de prendre des clichés en ligne du produit à la sortie du rotor-stator. Ce dispositif est équipé d'une caméra CCD (*Kappa*, Allemagne) reliée à une carte d'acquisition intégrée à un PC. Les paramètres rhéologiques des émulsions formées ont été étudiées à l'aide d'un rhéomètre à contrainte imposée (modèle SR-5 Rheometrics Scientific, USA) muni d'un système à effet Peltier pour assurer le maintien en température de l'échantillon. Le module utilisé pour les mesures est de type plan-plan non rugueux de 40 mm de diamètre. Les indices d'écoulement n et consistance k ont été déterminés par la loi puissance:

$$\tau = k \cdot \gamma^n$$

 $\tau$  (Pa) est la contrainte et  $\dot{\gamma}$  (1/s) est la vitesse de cisaillement.

Pour effectuer les expériences, nous avons construit un plan factoriel à quatre facteurs et deux niveaux (-1, +1). Les facteurs sont respectivement la concentration en protéines X1 (1 et 3 %w/w), la concentration en xanthane X2 (0,1 et 0,2 %w/w), la vitesse d'agitation X3 (800 et 1500 tpm) et le temps de séjour X4 (2 et 4 min) Ce plan se compose donc de 2<sup>4</sup>=16 expériences et d'un point central (X1=0,2 %, X2=0,15%, X3=1150 tpm et X4=3 min) répété 3 fois. Les réponses mesurées sont le diamètre moyen des gouttelettes d'huile d<sub>32</sub>, l'indice d'écoulement n, l'indice de consistance k et la stabilité des émulsions après 5h de repos à partir de

leur élaboration. Les données expérimentales issues du plan d'expériences ont ensuite été traitées par analyse de la variance (ANOVA) à l'aide du logiciel Statgraphics 5.0.

#### Résultats

Le tableau 1 présente les résultats du plan factoriel. Il résume les effets et les intervalles de confiances de chaque variable étudiée. Les p-valeurs issues de l'analyse de variance sont également indiquées pour chaque variable étudiée. Les niveaux de signification sont représentés par le symbole « L'absence de symbole indique que l'effet n'est pas significatif. On remarque que dans le domaine étudié, les augmentations de la concentration en protéines, de la vitesse d'agitation et du temps de séjour induisent toutes une diminution du diamètre moyen des gouttelettes d'huile d<sub>32</sub>. En revanche, la variation de la concentration en xanthane dans le domaine étudié n'a pas d'effet sur d<sub>32</sub>. La vitesse d'agitation est le facteur qui présente l'effet le plus significatif sur la diminution du diamètre moyen des gouttelettes de l'huile. Ces résultats ont été confirmés par les p-valeurs (colonne 4).

Concernant la rhéologie, on note que ce sont les teneurs en protéines et en xanthane ainsi que leur interaction qui modifient le plus les paramètres rhéologiques n et k des émulsions. L'augmentation de la concentration en protéines et en xanthane augmente l'indice de consistance k. En revanche, seul un ajout de xanthane augmente le caractère rhéofluidifiant de l'émulsion (n diminue). En effet, n tend plutôt à augmenter lors d'un ajout de protéines, malgré une interaction xanthane/protéines négative. L'effet du xanthane était attendu, compte tenu de la nature de ce polysaccharide.

Concernant la stabilité des émulsions, nous avons présenté la quantité d'huile séparée après 5h dans le tableau 1. On remarque que toutes les variables étudiées ont un effet significatif sur la stabilité. L'augmentation de la concentration en protéines et en xanthane ainsi que de la vitesse d'agitation diminuent la quantité d'huile séparée, autrement dit elle améliore la stabilité en fonction du temps. En revanche, l'augmentation du temps de séjour conduit à une augmentation de la quantité de l'huile séparée et donc les émulsions formées sont moins stables. Les p-valeurs montrent que, parmi les variables, c'est la concentration en xanthane et le temps de séjour qui ont les effets les plus significatifs sur la stabilité de l'émulsion.

#### Conclusion

Nous avons montré la possibilité de former en continu des émulsions à base de protéines extraites de poumon de bœuf en présence d'un polysaccharide. Les propriétés des émulsions dépendent à la fois de la composition des formulations et des conditions opératoires. Il semble que les conditions de procédé (vitesse d'agitation et temps de séjour) jouent le rôle principal sur la diminution du diamètre moyen des gouttelettes de la phase dispersée. En revanche, c'est la formulation qui influence le plus la viscosité de l'émulsion. Ainsi la stabilité des émulsions est améliorée par une augmentation des concentrations en protéines et en xanthane, ainsi que par une augmentation de la vitesse d'agitation, mais aussi par une diminution du temps de séjour. A terme ce type d'émulsion peut servir comme base à la préparation des produits foisonnés, mais également dans les préparations charcuteries.

Dans la suite de ce travail, nous envisageons à titre de comparaison de substituer les protéines du poumon par des caséinates du sodium. Ainsi, il sera possible de comparer les performances des protéines du poumon en émulsification par rapport à un ingrédient connu pour être l'agent d'émulsifiant par excellence et de valider les résultats obtenus par des mesures d'activité et de capacité émulsifiante en discontinu sur un procédé continu.

	d <sub>32</sub> (mm)		k (Pa.s <sup>n</sup> )		n		Quantité d'huile séparée (ml)					
	effet	IC	p	effet	IC	p	effet	IC	p	effet	IC	p
X1	-0.039	0.021	**	1.484	0.26	***	0.06	0.025	***	-1.56	0.21	**
X2	-	-	-	2.455	0.26	***	-0.112	0.025	***	-3.06	0.21	***
X3	-0.153	0.021	***	-	-	-	-	-	-	-0.96	0.21	**
X4	-0.034	0.021	**	-	-	-	-	-	-	1.78	0.21	***
X1 X2	-	-	-	1.090	0.26	***	-0.05	0.025	**	1.11	0.21	**
X1 X3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0.63	0.21	**
X1 X4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0.88	0.21	**
X2 X3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.51	0.21	**
X2 X4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-1.38	0.21	**
X3 X4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0.33	0.21	*

Tableau 1 : Résultats du plan factoriel.

IC: intervalle de confiance; p=\*\*\* IC 99%, \*\* IC=95%, \* IC=90%.

### ANALYSE DE LA FRACTION VOLATILE DU JAMBON DE BAYONNE

# THÉRON L.¹, TOURNAYRE P.¹, KONDJOYAN N., SANTÉ-LHOUTELLIER V.¹, ABOUELKARAM S.¹, ROBERT N.², DUTERTRE C.², BERDAGUÉ J-L.¹

<sup>1</sup> UR 370 Qualité des Produits Animaux, INRA, 63122 Saint-Genès Champanelle <sup>2</sup> Pyragena, Route de Samadet, 64410 Arzacq

#### Introduction

L'amélioration de la qualité du jambon de Bayonne, qui bénéficie d'une Indication Géographique Protégée, est une préoccupation constante du Consortium du jambon de Bayonne, notamment en termes d'arôme. L'objectif de ce travail est de déterminer parmi l'ensemble des composés constituant la fraction volatile, lesquels sont « odeur – actifs ». De nombreuses études ont porté sur l'analyse de la fraction volatile du jambon sec. Néanmoins, les méthodes de séparation chromatographique utilisées jusqu'ici ne permettaient pas d'établir la liste exhaustive des composés volatils du jambon sec. Dans ce contexte, une analyse complète de la fraction volatile a été mise en œuvre couplant une séparation chromatographique bidimensionnelle à la spectrométrie de masse, ainsi que des analyses olfactométriques.

#### Matériels et méthode

Les 20 jambons expérimentaux étaient rigoureusement conformes au cahier des charges IGP (Robert *et al.*, 2005). Un mélange de muscles *semi membranosus* et *biceps femoris* a été broyé et conservé sous-vide avant analyses. Pour repérer les composés odorants extraits de la fraction volatile par espace de tête dynamique, un système de chromatographie en phase gazeuse couplée à de l'olfactométrie multivoie (8 voies) récemment développé à l'INRA a été utilisé (Berdagué *et al.*, 2002 ; Tournayre *et al.*, 2005). Pratiquement, lors de séances d'olfactométrie de 35 minutes, un panel de 8 flaireurs a senti les molécules odorantes en sortie de colonne chromatographique. Les informations relatives à leur intensité (notée de 0 à 5), à leur durée de perception et à leur description ont été enregistrées puis analysées avec le logiciel AcquiSniff® (Tournayre *et al.*, 2002; Berdagué *et al.*, 2007) afin d'obtenir un aromagramme du jambon de Bayonne. Ensuite, pour identifier les composés odorants, une séparation par chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle couplée à des moyens d'identification par spectrométrie de masse à « temps de vol » ont été mis en oeuvre.

#### Résultats et discussion

La séparation chromatographique bidimensionnelle des composés volatils et la déconvolution spectrale rendue possible par la spectrométrie de masse à « temps de vol » ont permis l'identification de 612 composés dans le jambon de Bayonne, parmi lesquels une majorité de chaînes carbonées aliphatiques et de structures cycliques présentant une grande diversité de fonctions chimiques (carbonyles, nitriles, amines, thiols, esters...). La liste exhaustive de ces composés, qui va être prochainement publiée (Théron et al., 2008), indique qu'ils sont issus des catabolismes oxydatifs des glucides, des acides gras, des acides aminés et de réactions secondaires de condensation (estérifications, réactions de Maillard...). Cependant, la plupart de ces molécules ne sont pas odorantes et le panel des 8 flaireurs a seulement perçu et décrit 34 zones odorantes. Le tableau 1 regroupe les principaux items utilisés pour décrire les odeurs des composés volatils détectées lors des épreuves de CPG-O, ainsi que les pôles olfactifs auxquels ils appartiennent.

Pôles olfactifs	Descripteurs d'odeurs				
Chimique – Plastique - Solvant	Alcool, chimique, solvant, plastique, plastique chaud				
Moisi – Sous-bois	Champignon, moisi				
Empyreumatique	Caramel, chocolat, fumé, brûlé, grillé, croûte de pain				
Fruité - Floral	Agrume, citron, orange, fleuri, floral, fraise, fruit, pomme verte				
Végétal - Légume	Végétal, légume, pomme de terre, chou				
Beurré – Lactique - Fromage	Beurre, fromage, fromage rance, parmesan, pieds, yaourt, vomi				
Animal – Produits carnés	Bouillon de viande, pot au feu, viande, viande cuite, viande grillée salaison				

**Tableau 1 :** Répartition par pôles olfactifs des principaux descripteurs utilisés lors des épreuves de CPG-O. Le logiciel AcquiSniff® permet d'obtenir une présentation synthétique de l'ensemble des informations sensorielles acquises lors des épreuves d'olfactométrie conduites sur le jambon de Bayonne (figure 1). 34 zones odorantes ont pu être mises en évidence.

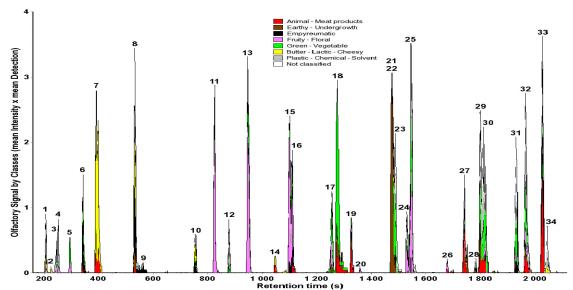


Figure 1: Aromagramme des odeurs communément et intensément perçues dans le jambon de Bayonne. Les principales substances odorantes identifiées dans ce produit sont : 1-2 = éthanol (Alcool), 3-4 = 2-propanone (solvant), 5 = 2-propanol (Fruit, alcool), 6 = propanal, 2-methyl- (Empyreumatique), 7 = 2,3-butanedione (beurre, lactique), 8 = butanal, 3-methyl- (Chocolat, fromage rance), 9 = vinyl acetate (Chimique, plastique), 10 = 1-butanol, 3-methyl- (Empyreumatique, fromage), 11 = propanoic acid, 2-methyl, ethyl ester (Fruit), 12 = toluène (Plastique, chimique), 13 = hexanal (Fruit, pomme verte, légume), 14 = butanoic acid, 3-methyl- (Vomi, fromage), 15 = butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester (Fruit, citron), 16 = butanoic acid, 3-methyl-, ethyl ester (Fruit), 17 = heptanal (Fruit), 18 = methional, 2-methyl- (pomme de terre), 19 = 2, 6-dimethylpyrazine (viande, grillé), 20 = phenol, 2-ethyl + non déterminé (Animal, produits de salaison), 21 = 1-octen-3-one (champignon), 23 = trisulfide, dimethyl- (chou, gaz), 24 = hexanoic acid, ethyl ester (Floral, fruit, solvant), 25 = octanal (Fruit, vert, chimique), 26 = N.I. (viande), 27 = heptanoic acid (Animal, rance), 28 = 1-nonen-3-ol (champignon), 29 = 2,3,5,6 tetramethylpyrazine (Caramel, chocolat), 30 = nonanal (vert, rance, plastique), 31 = N.I. (Plastique, empyreumatique), 32 = 2-nonenal (vert), 33 = octanoic acid (Animal, viande), 34 = N.I. (détecté mais non décrit).

Parmi ces zones odorantes, certaines ont été décrites de manière très consensuelle par le panel de flaireurs. Ainsi, les pics 11, 13, 15 et 17 ont été décrits par une odeur « fruitée » ; le pic 7 par une odeur « beurrée – lactique » ; le pic 18 par une intense odeur de « pomme de terre » ; les pics 21, 22 et 28 par des odeurs de « champignon » et le pic 23 par une odeur typique de « gaz - chou ». Pour la plupart des autres zones odorantes, les descriptions étaient moins consensuelles mais cohérentes avec la ou les odeur(s) théoriques(s) décrites dans les bases de données des structures identifiées par spectrométrie de masse.

#### Conclusion

Grâce à la puissance des moyens analytiques mis en œuvre, 612 composés ont été identifiés dans la fraction volatile du jambon de Bayonne. L'aromagramme réalisé sur ce produit a mis en évidence 34 zones odorantes pouvant être classées en 7 pôles olfactifs. A terme, pour mieux comprendre et gérer l'arôme du jambon de Bayonne, il sera important de suivre avec attention l'évolution des principaux marqueurs de la qualité aromatique que nous venons de mettre en évidence.

#### Références bibliographiques

Robert N., Basly S., Dutertre C., 2005. VPC, 24 (6), 201-204.

Berdagué J-L., Tournayre P., 2002. Flavour Research at the down of the Twenty-First century, Tec & Doc ed.; 514-519.

Tournayre P., Berdagué J-L., 2005. Gas chromatography-Olfaction analyses device and method. International Patent n° WO 2005/001470 A2.

Tournayre P., Berdagué J-L., 2002. Dépôt de marque AcquiSniff® (national et international). No 023166185.

Berdagué J-L., Tournayre P., Cambou S., 2007. J. Chromatography A, 1146 (1), 85-92.

Théron L., Tournayre P., Kondjoyan N., Abouelkaram S., Santé-Lhoutellier V., Berdagué J-L., 2008. J. Agric. Food Chem., in publication.

#### Remerciements

Ce projet a bénéficié d'un financement de l'Office National de l'Elevage (2006-2008).

# QUALITES PREDICTRICES DES PARAMETRES DE QUALITE DE VIANDE SUR LE DEFAUT VIANDES DESTRUCTUREES

### VAUTIER A.\*, BOULARD J., BOUYSSIERE M., HOUIX Y., MINVIELLE B.

IFIP – Institut du Porc. La motte au Vicomte, BP 35104, 35561 Le Rheu Cedex, France.

#### Introduction

Le défaut « viandes déstructurées » est un problème relativement récent, dont l'incidence s'est accrue au début des années 1990 avec le développement industriel de la production de jambon cuit supérieur libre service et le tranchage haute cadence qui y est associé. Ce défaut a fait l'objet de plusieurs études ces dernières années concernant sa caractérisation et ses facteurs de risques (FRANCK et al., 1999; AUBRY et al., 2000; FRANCK et al., 2000; MINVIELLE et al., 2001; MINVIELLE et al., 2003; VAUTIER et al., 2004, LAVILLE et al., 2005). Les muscles atteints présentent un fort potentiel glycolytique, une augmentation des espaces interfibrillaires et une hypercontraction des fibres (MINVIELLE et al., 2001). Le profil protéique des zones lésées montre une augmentation de la solubilité des protéines, ce qui rapproche le défaut du problème des viandes PSE (LAVILLE et al., 2005). Toutefois, le défaut viandes déstructurées reste principalement localisé en profondeur des muscles *Semimembranosus* et *Adductor* (sauf pour les cas les plus sévères), à l'inverse de l'atteinte générale qui caractérise les viandes PSE. L'objet de cette étude est d'établir, dans de bonnes conditions de représentativité, une hiérarchie dans la prédiction du défaut par les variables de qualité de viande et de carcasse d'après l'analyse d'une base de données compilant les résultats des deux dernières études de l'IFIP sur le sujet (MINVIELLE et al., 2003; VAUTIER et al., 2004).

#### Matériel et méthodes

Ce travail statistique repose sur une base de données constituée par 2420 porcs (croisement truies LW×LR et verrats LW×LR). Ces animaux ont été abattus en conditions industrielles dans 4 abattoirs (3 abattoirs avec anesthésie électrique + 1 abattoir avec anesthésie au CO<sub>2</sub>) et répartis en 8 journées d'abattage (2 par saisons) pour chaque site. Chaque lot a été abattu à la suite d'une mise à jeun de 24h incluant un temps de repos avant conduite à l'anesthésie de deux heures minimum. Les mesures de pH ont été réalisées à 30 minutes (pH1) et à 24 heures post-mortem (pHu) à l'aide d'un pH-mètre (SYDEL, France) équipé d'une électrode au Xerolyt© (type LoT, Mettler Toledo, Suisse) dans le muscle Semimembranosus. La couleur du muscle Gluteus Medius a été déterminée après la découpe primaire (coupe courte, à 6 cm de la pointe de l'os coxal) avec un chromamètre CR-300 (MINOLTA, Japon). Après désossage à 48h post-mortem, le caractère déstructuré a été noté par un opérateur unique selon la grille de notation éditée par l'IFIP (2005). Les données ont été traitées par régression logistique à l'aide de l'application SAS 8.02 (SAS Institute, USA). Deux modèles de prédiction ont été développés : un premier modèle « opérationnel » qui inclut uniquement les variables disponibles en routine en abattoir (G1, G2, M2, poids de carcasse, pH ultime), puis un second modèle « complet » comprenant l'intégralité des variables suivies dans ces deux études (G1, G2, M2, poids de carcasse, pH1, pH ultime, couleur (L\*,a\*,b\*) du Gluteus Medius).

#### Résultats et Discussions

Une faible fréquence du défaut est globalement mise en évidence (4.2% de notes 3 + 4) dans ces conditions de mise à jeun et de repos contrôlées. Conformément aux résultats de la bibliographie (AUBRY et al., 2000; FRANCK et al., 2000; MINVIELLE et al., 2001), le tableau 1 montre qu'il existe entre notes de déstructuration des différences significatives pour l'ensemble des paramètres de qualité de viande et de composition de carcasse: le défaut concerne davantage des carcasses lourdes, maigres et présentant de faibles valeurs de pH 1 et pH ultime.

Tableau 1: qualité de viande et caractéristiques des carcasses par note de déstructuration (IFIP, 2005)

Note de déstructuration	1 (B)	2 (M+)	3 (M-)	4 (D)	P. =
n =	2456	137	80	24	
pH1	6,40 <sub>a</sub>	6,21 <sub>b</sub>	6,14 bc	6,06 c	<0,0001
pHu	5,76 a	5,55 <sub>b</sub>	5,53 <sub>b</sub>	5,50 <sub>b</sub>	<0,0001
L*	46,3 <sub>a</sub>	50,0 <sub>b</sub>	52,6 c	54,5 c	<0,0001
a*	6,8 <sub>a</sub>	7,9 <sub>b</sub>	8,8 <sub>b</sub>	7,8 <sub>ab</sub>	<0,0001
b*	4,0 <sub>a</sub>	5,3 <sub>b</sub>	7,0 c	6,3 bc	<0,0001
Poids de carcasse (kg)	88,9 a	91,0 <sub>b</sub>	92,0 <sub>b</sub>	88,6 ab	<0,0001
G1 (mm)	16,9 <sub>a</sub>	15,7 <sub>b</sub>	16,5 ab	15,8 ab	0,0005
G2 (mm)	15,3 <sub>a</sub>	14,2 <sub>b</sub>	14,6 ab	13,8 ab	0,0005

M2 (mm)	56.6 a	58.3 h	59.9 b	59.0 a	< 0.0001

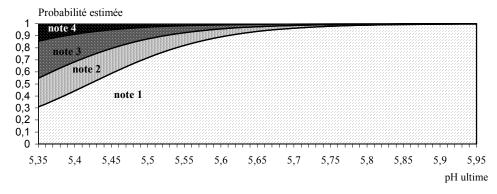
Le modèle de prédiction opérationnel met en évidence la sélection en premier lieu du pH ultime avec une concordance entre la note prédite et la note observée de 84,1% pour ce seul paramètre (tableau 2). Les données de composition affinent le modèle qui montre une concordance de 87.2% avec l'ajout de M2, G2 et du poids de carcasse. Le second modèle plus complet n'augmente que de 4.4 points la qualité de prédiction. La réflectance (L\*) du *Gluteus Medius* est ici sélectionnée en premier, mais avec seulement 78.6% de concordance. Cette valeur ainsi que la seconde position du pH ultime s'expliquent par la forte colinéarité de ces deux variables (r = -0.54). Par ailleurs, la sélection dans ce modèle du pH1 au troisième rang seulement met en évidence une différence dans les mécanismes d'apparition du défaut viande PSE (associé à une faible valeur de pH1) et du défaut viande déstructurées (davantage lié au pH ultime).

Tableau 2: relations entre la « note prédite » par régression logistique et « note observée »

		Modèle opérationr	nel	Modèle complet			
étape	variable	Concordance (%)	Discordance (%)	variable	Concordance (%)	Discordance (%)	
1	pHu	84,1	14,3	L*	78,6	20,8	
2	+ M2	86,0	13,7	+ pHu	87,7	12,1	
3	+ G2	86,8	12,9	+ pH1	90,6	9,0	
4	+ poids carc.	87,2	12,6	+ poids carc.	91,1	8,6	
5	-	-	-	+ G2	91.6	8.1	

Parmi les variables étudiées, le pH ultime se montre comme le meilleur prédicteur du défaut. Les courbes de prédiction (figure 1) montrent une diminution du risque d'occurrence lorsque le pH ultime augmente : le risque d'obtenir un jambon de classe 3 ou 4 (les plus pénalisants pour les industriels) est de 12.6% pour un pH ultime de 5.5 alors que ce risque chute à 1.4% pour un pH ultime de 5.7.

Figure 1: courbes de prédiction de la note de déstructuration par le pH ultime



#### Conclusion

Le défaut « viandes déstructurées » apparaît d'après ce travail de synthèse comme davantage lié au niveau de pH ultime qu'à une glycogénolyse post-mortem rapide révelée par de faibles valeurs de pH1. Malgré certaines homologies histologiques et biochimiques, ces résultats confortent l'existence de différences entre les mécanismes d'apparition du défaut viandes déstructurées et du défaut viandes PSE. Ainsi, dans des conditions variées (saison, site d'abattage, type d'anesthésie) mais contrôlées (durée de mise à jeun, durée de repos) le risque d'obtenir un jambon déstructuré est divisé par 9 lorsque son pH ultime passe de 5.5 à 5.7.

#### **Bibliographie**

Aubry, A. & Ligonesche B. 2000. Comparaison de porcs charcutiers NN et Nn pour les performances de croissance, carcase et qualité de viande, et l'aptitude à produire du jambon cuit. *Journées de la Recherche Porcine en France*, **32**, 361-367.

Franck, M & Monin, G. 2000. Observations complémentaires sur le jambon déstructuré: caractérisation du phénomène par le pH et la couleur du muscle *Semi-membranosus*. *Journées de la Recherche Porcine en France*, **32**, 345-349. IFIP. 2005. Grille de notation du défaut « déstructuré » des muscles de la cuisse de porc.

Laville, E. & Sayd, T. 2005. Characterisation of PSE zones in *Semi-membranosus* pig muscle. *Meat Sci*ence, **70**, 167-172.

Minvielle, B. & Le Strat, P. 2001. Viandes déstructurées, situation dans cinq abattoirs de l'Ouest de la France : facteurs de risque et proposition d'un modèle, caractérisation colorimétrique, biochimique et histologique. *Journées de la Recherche Porcine en France*, **33**, 95-101.

# Conférences invitées Génomique

## DES AVANCEES EN GENOMIQUE FONCTIONNELLE ET POSITIONNELLE CHEZ LES BOVINS A VIANDE : PROGRAMMES EN COURS ET POTENTIALITES

HOCQUETTE J.F. <sup>1</sup>, BOICHARD D. <sup>2</sup>, CASSAR-MALEK I. <sup>1</sup>, LAVILLE E. <sup>3</sup>, RENAND G. <sup>2</sup>, LEVEZIEL H. <sup>4</sup>, PICARD B. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> INRA, UR1213 Herbivores, Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle, France
 <sup>2</sup> INRA, UR337, Station de Génétique Quantitative et Appliquée, 78350 Jouy-en-Josas, France
 <sup>3</sup> INRA, UR370, Qualité des Produits Animaux, Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle, France
 <sup>4</sup> INRA, Université de Limoges, UMR1061 Génétique Moléculaire Animale, 87000 Limoges, France

#### Introduction

Bien que nécessitant encore de nombreux développements méthodologiques, les approches de génomique représentent une véritable révolution qui confère une capacité d'investigation inégalée car elles permettent d'étudier la totalité du génome d'un individu ou d'analyser simultanément tous les produits d'expression de ses gènes. Ainsi, la génomique est porteuse de nombreux enjeux en raison de ses diverses applications dans les sciences de la vie, notamment en médecine. Les enjeux en élevage n'en sont pas moins importants que ce soit en génétique ou physiologie animales. La génomique ouvre de nouvelles perspectives pour de nombreux programmes sur le métabolisme, la santé, le bien-être des animaux ou la qualité des produits, en raison du très grand nombre de gènes, protéines ou métabolites analysés conjointement. Cette synthèse se propose de dresser un état des lieux des progrès réalisés dans le domaine de la production de viande bovine et de dégager les principales perspectives. D'une façon générale, les processus physiologiques dépendent le plus souvent de l'expression de nombreux gènes qui agissent en interaction. C'est particulièrement vrai dans le cas de la qualité de la viande, notamment sa tendreté dont le déterminisme est multifactoriel. En effet, la tendreté de base est liée aux caractéristiques du tissu conjonctif alors que la tendreté de la fraction myofibrillaire dépend des caractéristiques contractiles et métaboliques des fibres musculaires et des phénomènes de protéolyse qui surviennent au cours de la maturation. De nombreux facteurs liés à l'animal (âge, race, génotype, sexe) ou au mode d'élevage (vitesse de croissance, alimentation) ou encore les facteurs technologiques post-mortem induisent des modifications des caractéristiques du muscle et par conséquent des variations de tendreté et de qualité des viandes. Toutefois, moins d'un tiers de la variabilité des qualités sensorielles est expliqué par la variabilité des caractéristiques musculaires de l'animal vivant (Renand et al., 2001). L'identification de nouveaux indicateurs biologiques par les techniques de génomique ainsi que leur régulation par les facteurs d'élevage constituent donc une priorité de recherche pour maîtriser la qualité de la viande. En génétique animale, l'objectif est de disposer d'un ensemble de marqueurs pour améliorer la sélection d'animaux ayant le potentiel de produire une viande de qualité élevée et constante.

#### I - Une meilleure connaissance des génomes

#### Les avancées récentes de la connaissance du génome bovin

Le génome bovin, comme celui de tous les mammifères, est de grande taille, 2 fois 3 milliards de paires de bases nucléotidiques, répartis sur 30 paires de chromosomes. Cette très grande taille a longtemps dissuadé la communauté scientifique d'espérer disposer de données complètes de séquence. En effet, le séquençage est resté longtemps l'apanage de génomes de petite taille et le coût énorme du séquençage du génome humain rendait inenvisageable la réalisation d'un travail identique chez le bovin. Du début des années 90 jusqu'au début des années 2000, la stratégie utilisée pour caractériser le génome a reposé sur trois idées : i) la construction de cartes à des échelles de plus en plus résolutives, permettant de se repérer sur le génome; ii) la construction de cartes comparées entre espèces, tirant parti de la conservation des génomes entre espèces et permettant ainsi d'inférer précisément la structure du génome bovin à partir de l'information sur d'autres génomes, en particulier ceux mieux connus de la souris et de l'homme; iii), le séquençage ciblé sur des zones d'intérêt, en particulier les gènes exprimés.

Cette période a ainsi vu le développement de milliers de marqueurs génétiques, principalement de type microsatellite, permettant de construire des cartes génétiques ; de cartes d'irradiation (RH), une technologie permettant de cartographier des séquences les unes par rapport aux autres de façon efficace, peu coûteuse et très résolutive ; la construction de banques de fragments d'ADN de taille variable, jusqu'à 200 kb, permettant d'étudier une grande région en tant que telle, en particulier par séquençage ; puis de cartes physiques, en positionnant les uns par rapport aux autres plusieurs dizaines de milliers de fragments du génome de 100 à 200 kb, de façon chevauchante et couvant ainsi tout le génome (Schibler et al, 2004; Snelling et al, 2007). D'un point de vue comparatif, les analyses de peinture chromosomique vers les années 1995 donnaient déjà une bonne image macroscopique des synténies entre espèces. La résolution a été considérablement améliorée par les cartes d'irradiation qui ont permis de positionner plusieurs milliers de gènes entre eux dans différentes espèces (voir par exemple Gautier et al, 2003). Au début des années 2000, tous ces outils étaient disponibles et permettaient de rechercher les gènes responsables de la variabilité des caractères, avec l'approche génétique classique suivante : 1) recherche d'une association entre des marqueurs génétiques et le phénotype

dans un dispositif expérimental adapté ; 2) développement de marqueurs complémentaires dans la région et cartographie fine des gènes recherchés ; 3) recherche des gènes candidats dans la région, par analyse comparée entre espèces.

La disponibilité de larges ressources de séquençage, la mobilisation de crédits importants, et surtout la diminution drastique du coût du séquençage a permis d'envisager le lancement de programmes de séquençage de génomes complets pour un nombre croissant d'espèces. Par sa forte communauté scientifique internationale compétente et impliquée et du fait de l'existence d'excellents outils préparatoires (en particulier cartes physiques et RH), le génome bovin a été l'un des premiers grands génomes d'animal domestique à être séquencé, après le poulet et le chien. Le financement a été en grande partie américain (NIH, Etat du Texas, USDA). Une première séquence a été diffusée durant l'été 2006 par le Baylor College of Medecine de Houston. Par la suite, la profondeur de séquençage (c'est-à-dire le rapport entre le nombre de bases séquencées et le nombre de bases du génome) a été augmentée pour dépasser 7X (ce qui signifie qu'en moyenne une séquence particulière est présente 7 fois dans la base de données). Par ailleurs, la qualité de l'assemblage s'est progressivement améliorée, de sorte que les versions suivantes du génome ont été de qualité croissante. A ce jour, la qualité de séquence est assez bonne, même s'il subsiste encore de nombreux trous et erreurs d'assemblage. L'arrivée de cet outil extraordinaire modifie profondément les méthodes de travail, fournit d'emblée des informations qu'il fallait laborieusement générer auparavant et fait donc gagner beaucoup de temps et d'efforts. Elle permet également des analyses bioinformatiques très fouillées de la structure du génome, seul ou en comparaison avec d'autres espèces, et permet souvent de découvrir des phénomènes jusqu'alors inconnus.

Le séquençage du génome d'une espèce comprend généralement le séquençage profond d'un individu de référence (en l'occurrence une femelle de race Hereford) mais aussi le séquençage partiel d'autres individus. La comparaison de ces séquences avec l'individu de référence donne accès à une variabilité de séquence et donc à un grand nombre de polymorphismes. Cette démarche a été utilisée chez les bovins : la base de données dbSNP rassemble une grande partie des SNP détectés, environ 2,2 millions aujourd'hui. De plus, plusieurs dizaines de milliers de ces SNP ont été validés par génotypage sur un panel de référence, afin de vérifier leur existence réelle et d'estimer les fréquences alléliques dans différentes populations. Plus récemment, tirant parti des énormes potentialités et du faible coût de séquençage de la méthode Solexa, un consortium a développé et validé de nouveaux marqueurs SNP (Van Tassell et al., 2008).

En parallèle se sont développées différentes technologies de génotypage. Celles disponibles actuellement, développées par Illumina et Affymetrix, s'apparentent beaucoup dans leur concept aux puces d'expression. Ces puces permettent de génotyper plusieurs dizaines de milliers (chez l'homme des centaines de milliers) de polymorphismes simultanément. La première puce disponible pour le bovin dès 2004, développée par Affymetrix, permettait de génotyper 10 000 SNP. La puce Illumina disponible en 2008 permet de génotyper 54 000 SNP à un coût moindre. Cette puce est actuellement l'outil standard sur le marché et elle est utilisée par la majorité des généticiens bovins de par le monde. Elle ouvre des perspectives considérables en génétique, par exemple pour la localisation fine de gènes d'intérêt, la sélection assistée par marqueurs ou la sélection génomique, l'analyse de la structure des populations ou l'analyse de la diversité.

#### La recherche de marqueurs génétiques utilisables en sélection

Depuis l'apparition des premières cartes génétiques (début des années 1990) jusqu'à l'incorporation d'informations moléculaires dans les programmes de sélection (début des années 2000), les avancées sur la connaissance du génome bovin ont été mises à profit avec efficacité pour l'amélioration des populations laitières. Ces démarches n'ont pas pu être entreprises aussi aisément pour la production de viande car il est plus difficile de disposer des structures familiales appropriées, du fait d'une moindre utilisation de l'insémination artificielle, et aussi parce que le recueil de performances n'est pas systématique, voire pratiquement absent pour les qualités des viandes. En conséquence, toute perspective d'identification de gènes et de polymorphismes d'intérêt pouvant à terme fournir les outils moléculaires venant appuyer les programmes de sélection passe par la mise en place de protocoles expérimentaux spécifiques.

En Europe, plusieurs équipes dont celles de l'INRA ont proposé en 1999 un projet européen qui consistait en une démarche exploratoire, reposant sur une approche gènes candidats et visant à identifier des gènes et polymorphismes contrôlant une partie de la variabilité des caractéristiques de qualité des viandes. Le programme GeMQual (Genetics of Meat Quality) a ainsi été mis en place en 2001. D'une part, des lots de 30 taurillons non apparentés et représentatifs de chacune des 15 races étudiées ont été engraissés afin de collecter des mesures phénotypiques relatives aux qualités des carcasses et des viandes. D'autre part, la mise en évidence de SNP dans ou à proximité de gènes choisis sur la base des connaissances de leur fonction physiologique a été entreprise. Au final, la recherche d'associations entre les polymorphismes et les performances phénotypiques a porté sur 372 SNPs (répartis dans 155 gènes), 972 animaux (434 taurillons + 538 parents) et 107 phénotypes. Diverses méthodes statistiques ont conduit au repérage de 149 associations significatives qui impliquent 33 gènes, situés sur 17 chromosomes, et 87 SNPs différents. Le nombre d'associations par gène varie de 1 à 19, une dizaine de gènes donnant lieu à la majorité (110) d'entre elles ; le nombre d'associations par SNP variant de 1 à 12. La majorité des associations se rapporte à la composition en acides gras des viandes (64), aux qualités sensorielles (32) ou à la tendreté (21). Quelques associations se rapportent à la croissance (13) ou à la couleur des viandes (8). Le dépouillement de cette masse d'informations, notamment l'analyse des données prenant en compte les haplotypes, n'est pas encore terminé. Toutefois, à l'issue de ce programme qui a mobilisé globalement une trentaine de scientifiques, plusieurs remarques générales peuvent être faites : (i) Les résultats montrent qu'il existe une variabilité importante des phénotypes mesurés, entre races et surtout entre animaux intra race. En particulier pour les caractéristiques peu ou pas soumises à sélection (adiposité des animaux, composition des lipides, tendreté). Le classement des animaux et des races varie selon les critères. Des marges d'amélioration sont donc possibles, soit par

croisement entre races, soit par sélection intra race. (ii) La recherche de marqueurs génétiques utilisables en sélection est un processus long et délicat : les premiers résultats obtenus par le programme GeMQual sont moins nombreux qu'espérés et cela s'explique sans doute non seulement par les effectifs examinés mais surtout parce qu'il n'est pas évident que les combinaisons alléliques soient les mêmes dans toutes les races. Après avoir repéré quelques pistes d'intérêt, l'identification des mutations directement responsables des phénotypes, dites mutations causales, nécessitera encore des investigations approfondies. Les situations les plus pertinentes à explorer devront de toute façon être validées, comme toute autre situation repérée dans les programmes qui constituent de premiers "cribles" du génome.

De nombreux autres programmes ont été conduits pour mieux connaître le déterminisme génétique de la qualité des viandes bovines et tenter d'identifier des outils moléculaires pour la sélection (revue de Renand et al., 2003). Les plus fortes mobilisations eurent lieu dès les années 90 aux USA et en Australie, mais des projets au Canada, en Nouvelle Zélande, et plus récemment en Allemagne ou en Ecosse peuvent être mentionnés. Ils reposaient tous sur des protocoles de croisement, et de ce fait la transposition des résultats obtenus (publiés ou non), ne pouvait s'appliquer directement dans nos races. De plus, le fait d'avoir des protocoles conduits dans conditions souvent éloignées (mode d'élevage, races étudiées, et caractéristiques de cuisson lors des analyses sensorielles) de celles rencontrées en France accentue encore le besoin de validation de ces résultats pour savoir s'ils sont réellement exploitables en sélection.

D'ailleurs, de tels programmes de validation intra race ont été mis en place en Australie (Cooperative Research Centre for the Cattle and Beef Industry) et aux Etats Unis (Carcass Merit Project). Ils ont porté à chaque fois sur plus de 7000 animaux mais de fait ont concerné un nombre limité de marqueurs ou de régions du génome. Des publications, voire même des dépôts de brevets, sont issus de ces travaux, et des tests génétiques ont été commercialisés à l'étranger pour certains marqueurs réputés améliorer le persillé ou la tendreté de la viande bovine (revue de Hocquette et al., 2007b). En France, le programme QUALVIGENE, porté par l'UNCEIA, financé par le Ministère de la recherche (ANR), APIS-GENE, le FNE et l'Office de l'Elevage, et mis en place en 2003, a pour premier objectif de valider dans les principales

races à viande françaises la pertinence de tout test ADN visant à améliorer la qualité des viandes bovines. QUALVIGENE s'appuie sur 3 349 taurillons, issus de 114 pères, engraissés puis abattus dans des conditions contrôlées en races Blonde d'Aquitaine, Charolaise, et Limousine. Ce programme a mobilisé 24 partenaires de la profession, de l'Institut de l'élevage ou de l'Inra. Au total, 98 phénotypes concernant les aptitudes bouchères, les caractéristiques musculaires et les mesures de qualité de la viande ont été collectés, l'ensemble des informations étant réuni dans une base de données consolidée fin 2007. L'analyse de la variabilité de ces données a permis d'estimer, pour la première fois en France, les paramètres génétiques des qualités de la viande bovine mettant en évidence dans nos races l'existence d'une variabilité génétique non négligeable (Renand et al., 2006b, 2007). Les ADNs des taurillons et de leurs parents disponibles (6150 individus au total) ont été génotypés dans un premier temps pour 48 marqueurs (27 SNPs et 21 microsatellites) correspondant à 12 gènes et 1 région chromosomique répartis sur 9 chromosomes. Pour la tendreté, ont été considérés les gènes CAPNI, CAST et LOX, et pour le persillé les gènes DGATI, FABP4, LEP, RORC et TG, ainsi qu'une région du chromosome 5 (BTA5). Pour la croissance musculaire, ce sont les gènes GDF8, IGF1, MYF5 et POMC. Les données sont en cours d'analyse, mais l'existence d'un polymorphisme consistant est confirmée pour ces marqueurs dans les 3 races. Il apparaît ainsi que l'utilisation de 4 SNPs pour un gène donné permet d'atteindre un taux d'hétérozygotie chez les pères supérieur à 80 %. Il doit être noté qu'au moins un marqueur du gène CAST, cité dans un brevet australien, ne révèle aucun polymorphisme dans nos races, ce qui confirme l'obligation de faire des validations dans nos populations. Les données sont en cours d'analyse. Des résultats préliminaires confirment les effets favorables de la mutation Q204X du gène GDF8 sur les caractéristiques musculaires en Charolais (Renand et al., 2006a), tandis que l'implication des gènes DGAT1 et TG dans la détermination du taux de lipides intramusculaires n'est pas vérifiée (Renand et al., 2007) alors que ces gènes ont été brevetés par des équipes étrangères.

Le programme QUALVIGENE a aussi permis, pour la première fois en France, d'entreprendre une détection de QTL des qualités des carcasses et de la viande grâce au génotypage de 147 marqueurs microsatellites, constituant un criblage du génome complet (genome scan), dans les 6 familles comportant les effectifs les plus importants. Les résultats sont en cours de dépouillement. Mais d'ores et déjà, l'utilisation des nouveaux outils de génotypage aujourd'hui disponibles, dits "à haut débit" et permettant l'analyse en parallèle de 54 000 SNPs, devrait permettre de grandement améliorer notre puissance de détection tout en gagnant en précision sur la localisation des QTLs. Actuellement, les réflexions théoriques portent sur la définition de la meilleure stratégie à employer afin d'optimiser l'efficacité et le coût des investigations. Si les marqueurs génétiques constituent la forme d'outils appropriée à la sélection, leur détection demeure difficile et il

Si les marqueurs génétiques constituent la forme d'outils appropriée à la sélection, leur détection demeure difficile et il ne sera sans doute pas toujours possible de "disséquer" pleinement le déterminisme génétique des caractères considérés. Alors, la puissance des méthodologies de la génomique offre l'espoir de détecter des marqueurs "biologiques" qui pourraient être utilisés de manière combinée et complémentaire. Reposant sur le recueil de phénotypes de plus en plus finement décrits, ils serviraient d'outils de prédiction d'une performance (comme la tendreté de la viande) et seraient par exemple basés sur la mesure de l'expression de gènes au niveau des transcrits ou des protéines. C'est pourquoi de nombreux travaux de génomique fonctionnelle abordent l'étude du muscle et de ses caractéristiques biologiques.

### II - Une meilleure compréhension de la biologie musculaire

#### Les approches de génomique fonctionnelle

La stratégie mise en œuvre est d'identifier les gènes ou les protéines différentiellement exprimés entre des animaux extrêmes sans connaissance *a priori* des processus impliqués. (revue de Cassar-Malek et al., 2008). Les différentes

études de transcriptomique réalisées chez le bovin ont suivi les évolutions technologiques des puces à ADN. Ainsi, des collections d'ADNc ont été préparées à partir des gènes exprimés dans le foie, l'intestin, l'embryon, l'endomètre, l'utérus, les ovaires, ou dans plusieurs tissus bovins mélangés dans le but de préparer des puces utilisables quel que soit le tissu. Des chercheurs coréens, australiens et français ont contribué à cet effort international en préparant des collections d'ADNc de muscles seuls ou mélangés avec des tissus adipeux pour maximiser la probabilité d'étudier des gènes impliqués dans le développement musculaire et l'accumulation de lipides dans la viande (revue de Hocquette et al., 2007b). Aujourd'hui, les équipes utilisent de plus en plus des microarrays dont la performance technique est supérieure. Ainsi, pour étudier le muscle de bovin, Bernard et al. (2007) ont utilisé des puces oligonucléotidiques de gènes musculaires humains et murins tandis que l'INRA (CRB Gadie) produit et distribue une puce de 22 000 oligonucléotides bovins issus de différentes origines. Différentes sociétés multinationales (ex : Affymetrix, Agilent) proposent des puces pan-génomiques pour les espèces d'intérêt domestiques dont le bovin.

Les protéines constituent le produit final de l'expression des gènes. Alors que les puces à ADN permettent potentiellement d'analyser l'expression de la quasi-totalité des gènes, les techniques de protéomique ne permettent que d'étudier les protéines les plus abondantes dans des conditions expérimentales précises. Pour remédier à ces problèmes, il est parfois nécessaire de travailler sur des fractions subcellulaires obtenues par des protocoles d'extraction différentiels (Laville et al., 2007) et/ou de répéter les expérimentations dans des conditions différentes de pH pour détecter plus de protéines (Chaze et al., 2008). Toutefois, l'étude du protéome est d'une extrême importance car la protéine peut être absente même quand le gène est présent. De plus, une protéine peut exister sous différentes "isoformes" que les puces à ADN ne peuvent généralement pas distinguer. Ces "isoformes" sont les produits de modifications post-traductionnelles ou peuvent résulter de l'épissage alternatif des ARNm. Une bonne illustration en est les isoformes de troponine T qui sont codées par 3 gènes différents caractéristiques des type cardiaque, lent et rapide et pour lesquelles 17 isoformes (6 lentes et 11 rapides) ont été révélées dans le muscle de bovin (Bouley et al., 2005).

#### **Etude du développement musculaire**

La myogenèse se produit au cours de plusieurs phases temporellement distinctes : la prolifération des cellules précurseurs (myoblastes) avant 180 jours de vie fœtale, la fusion des myoblastes en cellules différenciées multinucléées (myotubes) et la différentiation de ces cellules en fibres musculaires au cours du dernier tiers de gestation. L'analyse du transcriptome (Sudre et al., 2003) et du protéome (Chaze et al., 2008) chez les bovins a permis de caractériser certains profils d'expressions de gènes et de protéines régulés au cours du développement du tissu musculaire. Ainsi, Sudre et al (2003) ont confirmé l'importance physiologique du stade 180 jours p.c. comme transition ontogénique et la régulation de l'expression de nombreux gènes au cours de la période de différenciation. Cette étude a aussi permis l'identification des gènes (Leu5, Trip15, Siat8...) régulés pendant la myogenèse mais dont le rôle reste à élucider dans ce processus développemental. Par ailleurs, l'analyse du protéome du muscle semitendinosus (ST) a mis en évidence 248 protéines différentiellement exprimées au cours de la myogenèse. L'analyse en classification hiérarchique des trois premiers stades de gestation a révélé plusieurs clusters d'expression relatifs pour la plupart à la prolifération et la mort cellulaire (Chaze et al., 2008). Ces résultats suggèrent que la balance entre prolifération cellulaire et apoptose est primordiale pour le contrôle du nombre total de fibres musculaires. De plus, de nouveaux marqueurs potentiels spécifiques de la régulation du nombre total de fibres (protéines WARS et DJI) ou de la prolifération des différents générations de myoblastes (CLIC4 pour les myoblastes primaires, HnRNPK pour les myoblastes secondaires) ont été identifiés. Le dernier tiers de vie fœtale est surtout marqué par un nombre conséquent de changement d'isoformes des protéines contractiles et métaboliques (chaînes légères de myosine, troponine T lentes ou rapides ou encore les énolases alpha et béta) (Chaze et al., 2008). Une cartographie protéique très riche du muscle ST a ainsi pu être établie au cours de la vie fœtale (Chaze et al., 2006) venant compléter la cartographie faite sur muscle adulte (Bouley et al., 2004a). Ces données de modifications du protéome musculaire de bovin au cours de la vie fœtale constituent une référence pour des études de la myogenèse dans d'autres types de bovins mais aussi dans d'autres d'espèces pour des études de biologie comparée.

#### Profil de l'expression des gènes et des protéines en fonction du potentiel de croissance musculaire

L'hypertrophie musculaire a un impact économique fort car elle permet d'accroître la production de viande. Chez le bovin, un développement musculaire important est parfois positivement lié à la tendreté de la viande mais pas à sa flaveur. En accord avec des études cellulaires précédentes, des analyses transcriptomiques réalisées sur les muscles rectus abdominis (oxydatif) et semitendinosus (glycolytique) de jeunes taureaux sélectionnés sur leur différence de potentiel de croissance musculaire montrent que la sélection sur la vitesse de croissance diminue l'activité oxydative des muscles. De même, certains gènes impliqués dans la structure musculaire ou la régulation cellulaire sont plus exprimés chez les taurillons à faible potentiel de croissance (Sudre et al., 2005). Plus récemment, une sur-expression de 2/3 des gènes de la glycolyse a été mise en évidence dans le muscle longissimus thoracis chez les taurillons à fort potentiel de croissance. De plus, le niveau d'expression de gènes (FGF6, PLD2) connus pour leur implication dans les phénomènes d'hypertrophie musculaire chez les rongeurs a été corrélé à l'augmentation de la masse musculaire des taurillons indépendamment de leur masse grasse. Enfin, il semblerait que les gènes dont l'expression est modifiée par la sélection génétique soient en majorité différents de ceux associés aux qualités sensorielles des viandes, suggérant que la sélection n'aurait pas de conséquence majeure sur les qualités de la viande issue des animaux étudiés (Bernard et al., 2008). Au

contraire, certaines protéines telles que les isoformes de Troponine T apparaissent comme de bons marqueurs de l'hypertrophie musculaire et de la tendreté de la viande, indiquant qu'il n'y a pas opposition entre l'augmentation de la masse musculaire et l'amélioration de cette qualité sensorielle (Bouley et al., 2004b et 2005).

Des études ont aussi été entreprises chez les animaux dits « culards » caractérisés par une plus grande masse musculaire et une faible teneur en gras dans la carcasse et dans le muscle en raison de mutations du gène de la myostatine. La myostatine est un régulateur négatif de la croissance des muscles. Ainsi, tout mécanisme visant à réduire ou supprimer son action induit une forte croissance musculaire. Après la description de la mutation en race Blanc Bleu Belge (Grobet et al, 1997), plusieurs mutations ont été décrites dans différentes races. A chaque fois, la mutation rend le gène inactif et les animaux sont culards (Grobet et al, 1998). Une comparaison du transcriptome musculaire d'animaux culards ou non culards a souligné l'importance de gènes impliqués notamment dans le tissu conjonctif et dans le métabolisme énergétique et lipidique du muscle (Cassar-Malek et al., 2007) et dans les processus d'apoptose (Chelh et al., 2008).

Chez le mouton Texel également « hypermusclé », certains types de muscles comme le vastus medialis n'expriment pas d'hypertrophie. L'analyse protéomique de 4 types de muscles a montré que l'augmentation de la masse musculaire s'accompagne d'une plus grande expression d'enzymes du métabolisme énergétique, de protéines régulatrices du stress oxydant et de la transferrine, un indicateur d'hypoxie. La protéine alpha-1-antitrypsine est la seule qui soit différentielle entre les deux haplotypes (culard et non culard) quel que soit le type de muscle (Hamelin et al., 2006). Le gène responsable du caractère « hypermusclé » du mouton Texel est encore la myostatine. L'Université de Liège et l'INRA ont identifié la mutation responsable de ce caractère. Cette mutation perturbe la fabrication de la protéine myostatine en créant un site cible illégitime pour des microARNs sur les ARNs transcrits entraînant leur dégradation. Le gène de la myostatine s'exprime donc bien mais les ARN sont dégradés et la protéine myostatine ne peut donc pas être synthétisée normalement, ce qui entraîne l'hypertrophie musculaire observée (Clop et al., 2006). Cette étude a donc révélé un type de régulation génétique aux conséquences phénotypiques majeures. En fait, ce mécanisme est un exemple d'un processus cellulaire général appelé 'RNA interference'. Il s'agit notamment d'un mécanisme de défense naturel de la cellule face à une infection virale : la dégradation dans la cellule du (ou des) ARN du virus bloque la propagation de l'agent infectieux. La manipulation in vivo de ce processus cellulaire se développe de façon très active aux Etats-Unis comme une stratégie simple et rapide pour découvrir de nouvelles cibles pharmacologiques au niveau de gènes responsables de certaines pathologies. Certains auteurs prédisent que l'inactivation expérimentale de gènes en laboratoire par ce mécanisme permettra d'étudier chez les bovins la fonction biologique des gènes identifiés par les approches de génomique fonctionnelle (Sellner et al., 2007).

#### Mise en évidence de nouveaux marqueurs de la qualité de la viande

Il est bien connu que le principal facteur de variation de la tendreté de la viande bovine est le type de muscle plus que la race ou le type d'animal. Des études transcriptomiques sur les différences entre deux types de muscles de bovins ont mis en évidence quelques gènes d'intérêt pour la biologie du muscle, certains étant liés aux propriétés contractiles ou métaboliques du muscle. Les différences entre les types musculaires semblent dépendre du stade de développement (Sudre et al., 2003) et du type génétique des animaux (Sudre et al., 2005).

Certains acteurs de l'industrie de la viande bovine recherchent les gènes qui identifieraient les animaux ayant un fort potentiel à accumuler de la graisse intramusculaire afin de produire une viande persillée. C'est ainsi que des résultats japonais et australiens sur les races « Noire japonaise » et « Holstein » ont mis en évidence des gènes associés au persillé de la viande (Wang et al., 2005), l'un d'entre eux (*A-FABP*) étant aussi identifié en France (Jurie et al., 2007). Ces résultats peuvent aider à la mise en œuvre de stratégies de production en vue de maîtriser le développement adipeux intramusculaire aux différentes étapes de la croissance des animaux.

L'objectif du programme MUGENE (financé par l'ANR et APIS-GENE) est d'identifier de nouveaux marqueurs des qualités sensorielles de la viande bovine par des approches de génomique (Hocquette et al., 2007a). Le niveau d'expression d'un grand nombre de gènes et de protéines a été analysé dans le muscle *longissimus thoracis* ainsi que les caractéristiques biochimiques de ce muscle issu de taurillons Charolais. Les transcriptomes et les protéomes des muscles ont été comparés sur la base des qualités sensorielles et de la force de cisaillement de la viande cuite au grill (55°C). Parmi les marqueurs identifiés, certains indicateurs du métabolisme oxydatif ou du métabolisme des acides gras dans les muscles semblent associés à une meilleure flaveur (cytochrome-c oxydase, PRKAG1) ou à une meilleure tendreté (citrate synthase, apoBEC, apolipoprotéine, isoforme lente de la chaîne lourde de myosine, et chaine béta de l'ATP synthase) de la viande. Un résultat majeur est l'identification d'une relation négative entre l'expression du gène *DNAJA1* et la tendreté sensorielle de la viande après 14 jours de maturation à la fois chez les taurillons étudiés mais aussi chez des bœufs de race Charolaise (Bernard et al. 2007). Ce gène code pour une protéine chaperone de la famille des « heat shock » protéines (hsp40). Le niveau d'expression d'autres protéines de stress (notamment *HSPB1* codant pour l'Hsp27) est positivement corrélé à la force de cisaillement que ce soit au niveau des ARNm ou des protéines. Ces protéines ont une activité anti-apoptotique et pourraient ainsi ralentir le processus de mort cellulaire et par suite la maturation de la viande, obérant alors l'attendrissement du muscle après l'abattage.

En accord avec ces résultats, Morzel et al. (2008) ont montré avec le muscle *Semitendinosus* de taurillons Blonds d'Aquitaine que l'abondance de la succinate déshydrogénase (SDH, enzyme du métabolisme oxydatif) apparaît comme le meilleur prédicteur de la tendreté initiale et globale de la viande expliquant respectivement 66% et 58% de leur variabilité. De plus, les teneurs en HSP27 dans le muscle frais et des fragments de cette protéine dans le muscle au cours de la maturation, expliquent jusqu'à 91% de la variabilité de la tendreté sensorielle (Morzel et al., 2008).

Toutefois, une étude réalisée sur plusieurs races bovines à viande (Charolaise et Limousine) et rustique (Salers) a montré que les marqueurs potentiels de la tendreté semblent différents entre races. En effet, des différences d'expression pour plusieurs protéines (parvalbumine, *MLC2*, *ACBP*) ayant un lien avec le métabolisme du calcium, ont été retrouvées entre groupes de tendreté pour les deux races à viande mais pas en race Salers (Bouley et al., 2004b). L'analyse protéomique est aussi utilisée pour suivre les modifications des protéines au cours de la maturation de la viande (Bendixen et al., 2005). Ce sont les Hsp et les enzymes des métabolismes énergétique et protéique dont le niveau d'expression est le plus affecté au cours des 24 première heures qui suivent l'abattage chez le bovin (Jia et al., 2007). D'autres études ont apporté des éléments de compréhension pour certains problèmes de qualité de viande telle que la viande PSE (Laville et al., 2005) ou la viande de porc à coupe sombre ou claire (Sayd et al., 2006).

#### Génomique, élevage et nutrition

Dans le cadre de la durabilité des systèmes d'élevage, contrôler les performances zootechniques des animaux constitue un enjeu économique majeur. Dans ce contexte, les techniques de génomique permettent un autre regard sur les liens moléculaires entre la nutrition et la physiologie et notamment sur les interactions entre gènes et nutriments. Une étude australienne a mis en évidence qu'après 114 jours de sous-nutrition, de nombreux gènes correspondant à des protéines de structure ou de la matrice extracellulaire ou encore à des enzymes du métabolisme énergétique sont sous-exprimés indiquant une atrophie relative des fibres musculaires rapides glycolytiques (Lehnert et al., 2006). Des bœufs conduits au pâturage ont des muscles plus oxydatifs que des bœufs recevant de l'ensilage de maïs à l'auge. Une analyse transcriptomique dans les muscles de ces animaux (revue de Cassar-Malek et al., 2008) a révélé une expression différentielle du gène de la sélénoprotéine W (anti-oxydant) sous exprimée chez les animaux conduits au pâturage. Une analyse complémentaire a précisé que la différence d'expression est liée au régime et non pas au déplacement des animaux. La sélénoprotéine constituerait donc un indicateur potentiel de la conduite des animaux au pâturage.

#### III Applications potentielles des résultats et des travaux de génomique

#### Amélioration de la sélection: la SAM et la sélection génomique

La connaissance des gènes responsables de la variabilité génétique des caractères d'intérêt, ou tout au moins de leur position, permet d'opérer une sélection sur la base de l'information de polymorphisme disponible. Ainsi, si une mutation causale est connue, la sélection des reproducteurs sur la base des allèles favorables induit un progrès génétique sur le caractère considéré. Dans une certaine mesure, cette sélection s'affranchit de la connaissance du phénotype mesuré sur le candidat à la sélection ou ses descendants, même si très généralement, une information phénotypique sur la population reste essentielle. L'intérêt de cette sélection sur la base de l'information moléculaire est d'autant plus important que le phénotype est coûteux ou tardif à obtenir, voire non mesurable sur l'animal vivant ou incompatible avec le statut de reproducteur, ou peu informatif comme pour les caractères peu héritables. Elle est donc cruciale pour la qualité de la viande, dont la mesure précise est complexe et nécessite l'abattage de l'animal.

Même lorsque la mutation causale n'est pas identifiée, la sélection sur des marqueurs proches peut conduire au même résultat. On appelle marqueur tout polymorphisme génétique situé à proximité de la mutation causale sur le génome et tendant donc à être transmise avec elle entre parent et descendant. La disponibilité d'un très grand nombre de marqueurs SNP couvrant tout le génome permet, avec des dispositifs adaptés et de grande taille, de localiser très précisément les gènes d'intérêt et déterminer des combinaisons d'allèles marqueurs associés aux allèles favorables de ces gènes. Sélectionner sur ces combinaisons de marqueurs conduit alors au même résultat que de sélection directement sur l'allèle favorable. On parle alors de sélection assistée par marqueurs (SAM). L'efficacité et la généralité de cette approche dépendent de nombreux facteurs. Le principal est la stabilité de l'association marqueurs-gène d'intérêt (ou QTL) entre la population de référence dans laquelle cette association est mise en évidence et la population soumise à la sélection. Si l'efficacité intra race ne pose généralement pas de problème dès lors que les marqueurs sont suffisamment proches du QTL, la généralisation des résultats à différentes races peut s'avérer difficile, nécessitant alors l'utilisation de populations de référence spécifique de chaque race. Une population de référence est constituée d'un grand nombre d'individus, généralement avec une structure familiale définie, caractérisés à la fois d'un point de vue marqueurs et d'un point de vue phénotypique. Elle est très coûteuse à obtenir, même si potentiellement elle réduit le coût de la sélection ensuite. Les projets MUGENE ou QUALVIGENE constituent des populations de référence de ce type.

La SAM est d'autant plus efficace qu'elle repose sur l'utilisation de QTL expliquant la majeure partie de la variabilité génétique. Il n'en demeure pas moins que la variabilité dite « polygénique » due à un grand nombre de gènes expliquant chacun un petit effet n'est pas prise en compte par les programmes de type SAM. Pour contourner cet écueil, on a l'habitude de combiner toute l'information disponible, phénotypique, généalogique et moléculaire dans un modèle intégrant des gènes individualisés mais aussi une composante polygénique.

Une approche nouvelle, dite "sélection génomique" (Meuwissen et al, 2001) se développe actuellement, surtout chez les bovins laitiers. Elle utilise l'ensemble de l'information des marqueurs de tout le génome pour prédire statistiquement la valeur génétique globale. Elle ne fait référence à aucune connaissance sur des QTL individuels mais cherche à prédire la valeur génétique à partir d'un modèle « boite noire », comme le faisait le modèle polygénique classique à partir des performances et des généalogies. Le modèle de prédiction est construit à partir d'une grande population de référence (phénotypée et génotypée) à partir de laquelle on déduit une formule que l'on applique aux candidats génotypés. Bien

qu'il soit encore trop tôt pour conclure sur son efficacité, la sélection génomique se développe très rapidement du fait de son coût réduit en comparaison des méthodes classiques de contrôle sur descendance et de la précision importante qu'elle semble apporter, au moins à la première génération. Tous les résultats montrent cependant qu'un contrôle de performances reste essentiel car la qualité de la prédiction décroît rapidement avec le nombre de générations et la formule de prédiction doit constamment être remise à jour à partir de phénotypes récents.

#### Vers une meilleure description des phénotypes ?

Les techniques de génomique se sont considérablement développées générant des quantités croissantes de données qu'il faut maintenant stocker et interpréter par association avec des données phénotypiques.

Le premier problème qui se pose est donc la création et la gestion de bases de données. La difficulté est plus importante pour les données phénotypiques paradoxalement moins nombreuses mais plus diverses que les données moléculaires. Les chercheurs ont donc besoin aujourd'hui de référentiels de mesures relatives à la qualité des muscles et des viandes avec des méthodes standardisées et reproductibles. Ce style de démarche a été initié en Australie dans le cadre de la base de données du « Meat Standards Australia » qui est un modèle de prédiction de la qualité de la viande bovine. Une démarche plus modeste a été plus récemment engagée en France (projet BIF-BEEF).

Le second problème est la nécessité d'un système d'ontologie. Une démarche internationale intitulée « Animal Trait Ontology » a été initiée en ce sens. L'un de ses objectifs est de faciliter les comparaisons d'information entre les espèces dont les modèles de laboratoire et les espèces agronomiques.

Le troisième problème est de caractériser les phénotypes rapidement à moindre coût et de façon standard afin de tirer partie du flux croissant de données de génomique. Il s'agit du phénotypage à haut débit en cours de développement chez la souris. Toutefois, l'appréciation des différents critères de la qualité de la viande (que ce soit par analyse sensorielle, mesure mécanique, composition en acides gras ou autre) restera complexe, laborieuse et onéreuse. En l'absence de phénotypes faciles à acquérir, la mise au point d'outils de génomique fonctionnelle à haut débit de routine peut considérablement aider à caractériser le muscle ou la viande. Ainsi, dans le cadre du projet GENOTEND, une puce à ADN est en cours de conception avec la plupart des gènes connus pour avoir un effet sur les caractéristiques du muscle et la qualité de la viande, ces gènes étant issus d'études physiologiques classiques ou des travaux récents de génomique. Cet outil a deux applications potentielles : (i) pour le physiologiste, il permettra de mieux comprendre la variabilité biochimique des caractéristiques du muscle, (ii) pour le généticien, l'objectif est de relier la variabilité du génotype aux différences d'expression des gènes musculaires. A plus long terme, nous envisageons d'autres outils complémentaires de génomique à haut débit (puces à anticorps, spectrométrie de masse (LC/ESI-MS/MS), approches de métabolomique). A l'échelle de la recherche, les généticiens peuvent utiliser ces données d'expression comme de nouveaux phénotypes. Elles présentent des avantages déterminants dans l'identification des gènes et mutations en cause. De plus, elles orientent sur les voies métaboliques en cause et donc les gènes candidats. Elles permettent de discriminer entre des groupes de phénotypes similaires mais de déterminisme différent, un problème fréquemment rencontré en cartographie de QTL. Les données d'expression peuvent permettre de préciser le phénotype et de concentrer l'étude sur des groupes homogènes, dont la différence est liée uniquement au QTL recherché (Schadt et al, 2003). Enfin, elles peuvent améliorer la résolution de la cartographie des gènes qui dépend, entre autres, de la différence phénotypique entre génotypes (Ytournel et al, 2008). En effet, l'expression de certains gènes impliqués dans la construction de la différence phénotypique entre génotypes peut montrer des différences beaucoup plus marquées que l'écart macroscopique entre phénotypes classiques. Une fois les gènes et mutations correspondants identifiés, leur utilisation en sélection est simple. L'utilisation des données d'expression à différents niveaux (ARNm, protéines, métabolites) pourrait aussi aider à prédire le phénotype d'intérêt, par exemple pour la caractérisation du produit et son orientation sur un marché segmenté ou sa certification. D'autres auteurs (Kadarmideen et al., 2006) proposent d'utiliser les phénotypes d'expression directement en sélection, à la place ou en complément des informations phénotypiques classiques et de polymorphisme. Cette proposition peut apporter une réponse attractive lorsque le phénotype est difficile à mesurer ou peu informatif. Mais en pratique, elle doit surmonter les difficultés techniques importantes posées par la définition du tissu analysé (nature, stade physiologique), son accès sur l'animal vivant, la logistique de ce contrôle de performance et son coût. Toutes ces perspectives d'avenir s'appuient fortement sur des approches d'intégration (ou d'association de données) quel que soit le niveau : association SNP-phénotype ou SNP-expression, expression-biochimie du muscle, prédiction de la qualité de la viande, etc. Dans tous les cas, les notions de base de données, de population de référence, de référentiels

#### Conclusion

Au vu des résultats décrits ci-dessus, il apparaît que les progrès en génomique notamment bovine ont été spectaculaires ces dernières années. Le séquençage du génome bovin ainsi que la commercialisation à des coûts raisonnables de puces à SNPs ou de puces d'expression à très haut débit constituent une véritable révolution à la fois pour les généticiens et les physiologistes. En génétique, les méthodes d'estimation de la valeur génétique, combinant généalogies, génotypes et phénotypes, doivent être revisitées et ces différentes méthodes doivent s'enrichir les unes les autres en exploitant au mieux les nouveaux outils en "omics" (transcriptomique, protéomique, métabolomique). En physiologie, les chercheurs ont jusqu'à présent surtout publié des listes de gènes musculaires régulés par les facteurs d'élevage ou associés à la qualité de la viande sans vue d'ensemble. Mais le grand défi actuel de la biologie est bien de rendre compte du

de mesures et d'outils mathématiques ou statistiques seront au cœur de ces nouvelles voies de recherche.

phénotype en termes d'interactions entre les protéines des systèmes vivants. Cette question est centrale pour la qualité de la viande (en particulier bovine) dont le déterminisme est vraiment multifactoriel. Les chercheurs australiens sont les plus avancés car ils ont développé le modèle de prédiction de la qualité de la viande (le "Meat Standards Australia") le plus complet à ce jour. Pour en améliorer sa pertinence, leur ambition est d'intégrer dans ce modèle les nouveaux marqueurs génétiques et génomiques en cours de validation. Cette vision intégrative est au cœur des enjeux d'aujourd'hui.

#### Références bibliographiques

Bendixen E., 2005. Meat Sci., 71, 138-149.

Bernard C., Cassar-Malek I., Le Cunff M., Dubroeucq H., Renand G., Hocquette J.F., 2007. J. Agric. Food Chem., 55, 5229-5237.

Bernard C., Cassar-Malek I., Renand G., Hocquette J.F., 2008. 59th EAAP Meeting, Vilnius, Poster 17 page 24.

Bouley J., Chambon C., Picard B., 2004a. Proteomics, 4, 1811-1824.

Bouley J., Meunier B., Chambon C., De Smet S., Hocquette J.F., Picard B., 2005. Proteomics, 5, 490-500.

Bouley J., Meunier B., Culioli J., Picard B., 2004b. Renc. Rech. Ruminants, 11, 87-89.

Cassar-Malek I., Picard B., Bernard C., Hocquette J.F., 2008. Aust. J. Exp. Agr., 48, 701-710.

Cassar-Malek I., Passelaigue F., Bernard C., Léger J., Hocquette J.F., 2007. BMC Genomics, 8, 63.

Chaze T., Bouley J., Chambon C., Barboiron C., Picard B., 2006. Proteomics, 6, 2571-2575.

Chaze T., Meunier B., Jurie C., Chambon C., Picard B., 2008, Proteomics, sous presse.

Chelh I., Meunier B., Picard B., Reecy J., Chavalier C., Hocquette J.F., Cassar-Malek I. 2008. 3<sup>rd</sup> International Congress of Myology. May 26-30<sup>th</sup>, Marseille. PW5-061.

Clop A., Marcq F., Takeda H., Pirottin D., Tobin J., Bibé B., Bouix J., Caiment F., Elsen J.M., Eychenne F., Larzul C., Laville E., Meish F., Milenkovic D., Tordoir X., Charlier C., Georges M., 2006. Nat. Genet., 38, 813-818.

Gautier M., Hayes H., Eggen A., 2003. Mamm. Genome, 14, 711-721.

Grobet L., Poncelet D., Royo Martin L.J., Brouwers B., Pirottin D., Michaux C., Ménissier F., Zanotti M., Dunner S., Georges M., 1998. Mamm. Genome, 9, 210-213.

Grobet L., Royo Martin L.J., Poncelet D., Pirottin D., Brouwers B., Riquet J., Schoeberlein A., Dunner S., Ménissier F., Massabanda J., Fries R., Hanset R., Georges M., 1997. Nat. Genet., 17, 71-74.

Hamelin M., Sayd T., Chambon C., Bouix J., Bibé B., Milenkovic D., Leveziel H., Georges M., Clop A., Marinova P., Laville E., 2006. J. Anim. Sci., 84, 3266-3276.

Hocquette J.F., Bernard C., Cassar-Malek I., Lepetit J., Micol D., Jurie. C., Meunier B., Renand G., Picard B., 2007a. Renc. Rech. Ruminants, 14, 117-120.

Hocquette J.F., Lehnert S., Barendse W., Cassar-Malek I., Picard B., 2007b. Animal, 1, 159-73.

Jia X.H., Ekman M., Grove H., Faergestad E.M., Aass L., Hildrum K.I., Hollung K., 2007. J. Proteome Res., 6, 2720-2731.

Jurie C., Cassar-Malek I., Bonnet M., Leroux C., Bauchart D., Boulesteix P., Pethick D.W., Hocquette J.F., 2007. J Anim Sci., 85, 2660-2669.

Kadarmideen H.N., von Rohr P., Janss L.L.G., 2006. Mamm. Genome, 17, 548-564.

Laville E., Sayd T., Santé-Lhoutellier V., Morzel M., Labas R., Franck M., Monin G., 2005. Meat Sci., 70, 167-172.

Laville E., Sayd T., Terlouw C., Chambon C., Damon M., Larzul C., Le Roy P., Glénisson J., Chérel P., 2007. J. Agr.Food Chem., 55, 5834-5841.

Lehnert S.A., Byrne K.A., Reverter A., Nattrass G.S., Greenwood P.L., Wang Y.H., Hudson N.J., Harper G.S., 2006. J. Anim. Sci., 84 3239-3250

Meuwissen T.H.E., Hayes B.J., Goddard M.E., 2001. Genetics, 157, 1819-1829.

Morzel M., Terlouw C., Chambon C., Micol D., Picard D., 2008. Meat Sci., 78, 297-304.

Renand G., Bonnot A., Levéziel H., Payet N., Malafosse A., Hocquette J.F., Lepetit J., Rousset S., Denoyelle C., Dodelin V., 2007. Renc. Rech. Ruminants, 14, 113-116.

Renand G., Larzul C., Le Bihan-Duval E., Le Roy P., 2003. INRA Prod. Anim., 16, 159-173.

Renand G., Levéziel H., Payet N., Hocquette J.F., Lepetit J., Denoyelle C., Dodelin V., Malafosse A., 2006a. Viandes Prod. Carnés, Hors série, p.133-134.

Renand G., Malafosse A., Ménissier F., Levéziel H., Hocquette J.F., Lepetit J., Rousset S., Denoyelle C., Dodelin V., 2006b. 8<sup>th</sup> World Congr. Genet. Applied Livest. Prod., comm. N° 13-02.

Renand G., Picard B., Touraille C., Berge P., Lepetit J., 2001. Meat Sci., 59, 49-60.

Sayd T., Morzel M., Chambon C., Franck M., Figwer P., Larzul C., Le Roy P., Monin G., Chérel P., Laville E., 2006. J. Agr. Food Chem., 54, 2732-2737.

Schadt E.E., Monks S.A., Drake T.A., Lusis A.J., Che N., Colinayo V., Ruff T.G., Milligan S.B., Lamb J.R., Cavet G., Linsley P.S., Mao M., Stoughton R.B., Friend S.H., 2003. Nature, 422, 297-302.

Schibler L., Roig A., Mahe M.F., Save J.C., Gautier M., Taourit S., Boichard D., Eggen A., Cribiu E.P., 2004. Genet. Sel. Evol., 36, 105-122.

Sellner E.M., Kim J.W., McClure M.C., Taylor K.H., Schnabel R.D., Taylor J.F., 2007. J. Anim. Sci., 85, 3148-3158. 2007.

Snelling W.M., Chiu R., Schein J.E., Hobbs M., Abbey C.A., Adelson D.L., et al., 2007. Genome Biol., 8, r165.

Sudre K., Leroux C., Piétu G., Cassar-Malek I., Petit E., Listrat A., Auffray C., Picard B., Martin P., Hocquette J.F., 2003. J. Biochem., 133, 745-756.

Sudre K., Cassar-Malek I., Listrat A., Ueda Y., Leroux C., Jurie C., Auffray C., Renand G., Martin P., Hocquette J.F., 2005. Meat Sci., 70, 267-277.

Van Tassell C.P., Smith T.P.L., Matukumalli L.K., Taylor J.F., Schnabel R.D., Taylor Lawley C., Haudenschild C.D., Moore S.M., Warren W.C., Sonstegard T.S., 2008. Nat. Methods, 5, 247-252.

Wang Y.H., Byrne K.A., Reverter A., Harper G.S., Taniguchi M., McWilliam S.M., Mannen H., Oyama K., Lehnert. S.A., 2005. Mamm. Genome, 16, 201–210.

Ytournel F., Gilbert H., Boichard D., 2008. INRA Prod. Anim., 21, 147-158.

# Communications orales Génomique

# ASSOCIATION DE MARQUEURS DU GENE DE LA CALPAÏNE 1 AVEC LA TENDRETE DE LA VIANDE DANS TROIS RACES ALLAITANTES FRANÇAISES

ALLAIS S.<sup>1</sup>, LEVEZIEL H.<sup>2</sup>, LEPETIT J.<sup>3</sup>, ROUSSET S.<sup>4</sup>, DENOYELLE C.<sup>5</sup>, BERNARD C.<sup>5</sup>, JOURNAUX L.<sup>1</sup>, RENAND G<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>UNCEIA, 75595 Paris Cedex 12; <sup>2</sup>INRA/Université de Limoges, UMR 1061, 87060 Limoges; <sup>3</sup>INRA UR 370, 63122 Saint Genès Champanelle; <sup>4</sup>INRA UMR 1019, 63122 Saint Genès Champanelle; <sup>5</sup>Institut de l'Elevage, 75595 Paris Cedex 12; <sup>6</sup>INRA UR 337, 78352 Jouy en Josas Cedex.

#### Introduction

Pour regagner la confiance des consommateurs, les producteurs de viande bovine ont opté pour une segmentation de marché basée sur la qualité. Cependant, la création de filières de qualité ne peut pas encore intégrer la supériorité génétique pour les qualités sensorielles de la viande puisque ces caractères ne sont pas sélectionnables, étant non mesurés. En effet, leur mesure est coûteuse et difficile à mettre en place. L'identification de marqueurs génétiques des qualités de la viande serait donc un moyen de faciliter l'amélioration génétique pour ces caractères. Des tests américain et australien sont déjà commercialisés. Ils utilisent deux marqueurs du gène de la calpaïne-1 qui code pour la protéase μ-calpaïne impliquée dans les processus d'attendrissement de la viande post-mortem (Koohmaraie, 1996). Les effets de ces marqueurs ayant été mis en évidence sur des races et systèmes de production différents, il apparaît nécessaire de vérifier leurs effets dans les 3 principales races allaitantes françaises : Charolaise, Limousine et Blonde d'Aquitaine. L'objectif du présent travail est donc d'estimer les fréquences de plusieurs marqueurs de la calpaïne dans ces trois races et surtout d'estimer leur effet sur la tendreté de la viande.

#### Matériel et Méthodes

Cette étude a été réalisée dans le cadre du programme Qualvigène du réseau AGENAE. Ce projet, soutenu par l'ANR, APIS-GENE, l'Office de l'Elevage et le FNE, a pour objectif la détection et la validation de marqueurs génétiques impliqués dans les qualités de la viande bovine. Le dispositif expérimental est constitué de 3349 jeunes bovins (JB) : 1114 Charolais, 1254 Limousins et 981 Blonds d'Aquitaine, issus de 114 pères mis en contrôle sur descendance entre les années 2004 et 2006. Les JB Limousins et Blonds d'Aquitaine ont été abattus à âge constant, respectivement à 16 et 14 mois. Les JB Charolais ont été abattus à poids constant, à 730 kg environ. Ces JB ont été engraissés et abattus dans les conditions habituelles des programmes de sélection. Concernant la tendreté de la viande, deux steaks de 6 cm d'épaisseur, tranchés à 24h dans le muscle *longissimus thoracis* (LT) au niveau des 8ème et 9ème côtes ont été congelés après 14 jours de maturation. Ces steaks ont été cuits sur grill à 55°C à cœur. Le premier steak a été dégusté par un jury de 12 membres entraînés et spécifique de chaque race. Celui-ci a attribué une note de tendreté (NT) comprise entre 0 et 100 à chaque échantillon. La moyenne des mesures de force de cisaillement (n~12) (FC, méthode Warner-Bratzler) a été déterminée sur le second steak.

Un prélèvement sanguin a été réalisé sur tous les veaux, tous leurs pères et la majorité des mères pour en extraire l'ADN. Tous les animaux furent génotypés pour quatre SNP (Single Nucleotide Polymorphism) situés sur le gène de la calpaïne. Ces SNP ont été choisis en fonction de la bibliographie, des possibilités de génotypages et des polymorphismes existant dans les trois races. Le premier SNP, SNP1, est situé dans l'exon 6 avec un polymorphisme A/G, le deuxième, SNP2, dans l'exon 9 avec C/G, le troisième, SNP3, dans l'exon 14 avec A/G et le quatrième, SNP4, dans l'intron 19 avec A/G.

Pour estimer les associations entre les SNP et la qualité de la viande, les modèles d'analyse incluent systématiquement le lot d'abattage pour les mesures de force de cisaillement ou la séance de dégustation pour les mesures de tendreté et le père en effet aléatoire. Les analyses sont réalisées race par race à l'aide de la procédure MIXED de SAS. Pour chaque SNP, les trois génotypes (2 homozygotes, 1 hétérozygote) ont été intégrés au modèle afin de tester l'éventuelle présence d'effet de dominance. Ensuite, sous l'hypothèse d'absence de dominance, une régression sur le nombre de copie de l'allèle G (0, 1 ou 2) a été intégrée afin d'estimer l'effet additif de cet allèle. Puis, les quatre SNP ont été combinés pour reconstituer les haplotypes en utilisant le logiciel de Druet et al. (2008). Une régression multiple sur la présence (0, 1 ou 2) de tous les haplotypes possibles a été intégrée en lieu et place des régressions simples.

### Résultats et Discussion

Les conditions d'élevage étant différentes selon la race, les moyennes des caractères ne sont pas comparables. Seuls les écart-types phénotypiques (é.t.) et les coefficients de variation (c.v.) sont rapportés dans le tableau suivant :

Charol	ais é.t.	c.v.	Limousins	é.t.	c.v.	Blonds	é.t.	c.v.
Note de tendreté, /100	7.9	0.13		7.3	0.12		10.7	0.17
Force de cisaillement, N/m <sup>2</sup>	7.3	0.19		7.5	0.18		10.4	0.26

Les analyses avec les trois génotypes n'ont mis en évidence un effet de dominance que pour SNP3 en race Charolaise où les JB hétérozygotes (A/G) produisent une viande plus dure que les homozygotes (A/A ou G/G). Les analyses par régression ont permis d'estimer les effets additifs de l'allèle G pour chaque SNP. Les fréquences de l'allèle G, f(G), et son effet additif, a(G), exprimé en unité d'écart-type phénotypique, sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

NT=	Note de Tendreté		Charolais			Limousins			Blonds	
FC=	Force de Cisaillement	f(G)	a(G)/é.t.	Prob	f(G)	a(G)/é.t.	Prob	f(G)	a(G)/é.t.	Prob
SNP1	NT	0.63	0.04	0.46	0.45	0.05	0.26	0.78	0.12	0.07
	FC		-0.03	0.51		-0.005	0.91		-0.08	0.20
SNP2	NT	0.89	-0.25	0.002	0.70	0.01	0.83	0.94	0.06	0.61
	FC		0.22	0.01		0.12	0.02		-0.05	0.69
SNP3	NT	0.75	0.02	0.66	0.63	0.05	0.28	0.63	-0.003	0.95
	FC		-0.07	0.21		-0.05	0.24		0.08	0.14
SNP4	NT	0.44	-0.10	0.03	0.55	0.02	0.67	0.62	-0.04	0.44
	FC		0.11	0.03		0.01	0.74		0.03	0.54

Seuls sont nettement significatifs les effets de SNP2 et SNP4 en race Charolaise avec l'allèle G qui apparaît associé à une viande plus dure. Pour SNP2, les JB homozygotes C/C présentent une viande plus tendre d'environ ½ écart type par rapport aux homozygotes G/G. Pour SNP4, les JB A/A présentent une viande plus tendre d'environ 1/5 écart type par rapport aux JB G/G. Ces deux allèles, C et A, sur SNP2 et SNP4, participent à l'haplotype ACGA qui a un effet significativement favorable sur la tendreté en race Charolaise, selon les deux caractères mesurés (cf tableau ci-dessous).

NT=	Note de Tendreté	Ch	narolais		I	imousins		F	Blonds	
FC=	Force de Cisaillement	freq	a/é.t.	Prob	freq	a/é.t.	Prob	freq	a/é.t.	Prob
ACAG	NT	0.002	1.21	0.02	0.03	-0.13	0.28	0.004	-0.21	0.56
	FC		-0.25	0.64		-0.01	0.94		-0.33	0.37
ACGA	NT	0.06	0.33	0.01	0.20	0.01	0.93	0.03	-0.05	0.73
	FC		-0.29	0.02		-0.16	0.01		0.13	0.39
ACGG	NT	0.03	0.02	0.89	0.04	-0.01	0.91	0.005	0.19	0.53
	FC		-0.11	0.48		-0.09	0.40		-0.26	0.38
AGAG	NT	0.06	-0.17	0.20	0.13	-0.06	0.39	0.05	0.09	0.47
	FC		0.15	0.26		0.04	0.56		0.01	0.94
AGGA	NT	0.20	-0.10	0.35	0.12	-0.08	0.22	0.06	-0.16	0.18
	FC		0.06	0.57		0.15	0.03		0.29	0.01
AGGG	NT	0.002	-1.29	0.01	0.01	0.22	0.23	0.04	-0.02	0.89
	FC		0.55	0.29		0.12	0.52		0.05	0.69
GGAG	NT	0.17	0.02	0.85	0.20	-0.02	0.69	0.30	0.05	0.53
	FC		-0.05	0.67		0.01	0.91		-0.01	0.89
GGGA	NT	0.30	0.08	0.43	0.12	0.004	0.95	0.29	0.11	0.15
	FC		-0.13	0.22		-0.01	0.84		-0.04	0.57
GGGG	NT	0.18	-0.10	0.32	0.15	0.07	0.23	0.23	0.004	0.96
	FC		0.06	0.55		-0.05	0.45		0.16	0.05

#### Conclusion

Les résultats en race Charolaise pour SNP2 sont en accord avec les études de Page et al., 2004 et White et al., 2005. Par contre, ces mêmes auteurs ont rapporté un effet additif de SNP3, effet non confirmé dans la présente étude. L'absence de relation entre marqueurs ou haplotypes et les deux caractères mesurés, en races Limousine et Blonde d'Aquitaine, amène à conclure que les tests génétiques actuellement commercialisés ne sont pas utilisables dans ces races pour améliorer la tendreté. La mise en évidence de l'effet significatif d'un haplotype indique qu'il existe très probablement un polymorphisme dans le gène de la calpaïne qui est associé à une variation de tendreté en race Charolaise. Les recherches doivent être poursuivies pour trouver des marqueurs plus étroitement liés à ce polymorphisme causal et donc utilisables en sélection dans les trois races.

#### Références bibliographiques

Druet T., Fritz S., Boussaha M., Ben-Jemaa S., Guillaume F., Derbala D., Zelenika D., Lechner D., Charon C., Boichard D., Gut I.G., Eggen A., Gautier M., 2008. Genetics, 178, 2227-2235. Koohmaraie M., 1996. Meat Sci., 43, 193-201.

Page B.T., Casas E., Quaas R.L., Thallman R.M., Wheeler T.L., Shackelford S.D., Koohmaraie M., White S.N., Bennett G.L., Keele J.W., Dikeman M.E., Smith T.P.L., 2004. J. Anim Sci., 82, 3474-3481.

White S.N., Casas E., Wheeler T.L., Shackelford S.D., Koohmaraie M., Riley D.G., Chase Jr C.C., Johnson D.D., Keele J.W., Smith T.P.L., 2005. J. Anim Sci., 83, 2001-2008.

# IDENTIFICATION DE GENES IMPLIQUES DANS LES VARIATIONS DE LA QUALITE DES VIANDES DE VOLAILLES : ETUDE DU TRANSCRIPTOME MUSCULAIRE CHEZ LE POULET

# SIBUT V.<sup>1,2</sup>, HENNEQUET C.<sup>1</sup>, GAUDRON Y.<sup>1</sup>, LE BIHAN-DUVAL E.<sup>1</sup>, DUCLOS M. J.<sup>1</sup>, BERRI C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA, UR83 Recherches Avicoles, 37380 Nouzilly; <sup>2</sup>ITAVI, 37380 Nouzilly

#### Introduction

Dans un contexte où la consommation des produits de découpe et élaborés de volaille ne cesse d'augmenter, la maîtrise de l'aptitude à la transformation et à la conservation de la viande est un enjeu majeur pour les espèces avicoles. Chez le poulet comme chez d'autres espèces, les réserves musculaires en glycogène disponibles au moment de la mort, ou Potentiel Glycolytique (PG), constituent un élément déterminant de la qualité technologique via leur effet sur le pH ultime (pHu) de la viande. En effet, il existe une très forte corrélation génétique (-0,97) entre le PG et le pHu, lui même fortement corrélé avec plusieurs indicateurs de qualité des viandes (couleur, pouvoir de rétention en eau, texture) (Le Bihan-Duval et al., 2008). L'objectif de la présente étude était d'identifier grâce à une approche de génomique expressionnelle les gènes à l'origine des variations de PG et donc de la qualité. Ces approches, réalisées conjointement à une démarche de génomique positionnelle (de recherche de QTL), devraient à terme permettre d'optimiser les pratiques d'élevage des animaux pour améliorer la qualité des viandes de volaille, mais aussi de développer des outils d'aide à la sélection.

#### Matériel et Méthodes

<u>Dispositif</u>: L'étude a porté sur 3 populations animales différentes : les lignées dites « maigre » (M) et « grasse » (G) sélectionnées sur le niveau d'adiposité abdominale et variant pour le PG (Sibut et al., 2008), le croisement de seconde génération (F2MG) établi entre ces 2 lignées (Le Bihan-Duval et al., 2008), et une souche commerciale de poulets lourds (Berri et al., 2007; Le Bihan-Duval et al., 2008). Le transcriptome musculaire d'animaux à fort ou faible PG a été comparé au sein de chacune de ces 3 populations. Les caractéristiques musculaires et de qualité de la viande des animaux étudiés sont rapportées dans le Tableau 1.

<u>Préparations des échantillons</u>: Au sein de chaque dispositif, deux groupes d'animaux extrêmes en terme de PG (PG- et PG+) ont été formés, avec n=8 par groupe pour les dispositifs F2MG et MG et n=10 pour le dispositif de poulets lourds. Pour chaque individu, les ARN ont été extraits à partir du muscle *Pectoralis major* (RNeasy midi kit, Qiagen). Leur qualité et leur quantité ont été vérifiées respectivement avec le Bio-Analyzer 2100 (Agilent) et le NanoDrop (NanoDrop Technologie®). Une transcription inverse a été réalisée à partir de 50μg d'ARN afin d'obtenir de l'ADNc, qui a ensuite été marqué (marquage indirect) avec des Alexa fluor 647 (rouge) ou 555 (vert). <u>Hybridation - Lecture :</u> Les ADNc fluoromarqués de muscle pectoral ont été hybridés de façon dynamique, à l'aide du SlideBooster (Olympus Advalytix), en « dye-switch » sur des lames à oligonucléotides ARK Genomics. Celles-ci ont été fournies par le CRB GADIE et sont composées de 22000 dépôts uniques (collection d'oligonucléotides dessinée à partir de l'assemblage du génome du poulet). La lecture s'est effectuée à l'aide du GenePix Pro 6.0 (Axon) et a permis d'obtenir une image composite de l'intensité et du bruit de fond des spots.

<u>Traitement des données</u>: Les données ont été extraites et une étude descriptive de chaque lame réalisée sous R 2.6.1. La normalisation, de type Lowess par lame suivie d'une correction de la médiane par bloc, et l'analyse différentielle ont été effectuées sous R à l'aide du package Anapuce 2.0 (<u>www.inapg.fr/ens rech/maths/outil.html</u>). Afin d'identifier les voies métaboliques et de signalisation impliquées dans le contrôle du glycogène musculaire, l'annotation des gènes différentiels entre les 2 conditions (PG+ et PG-) et ayant un orthologue humain a été réalisée avec le logiciel « Pathway Miner » (Pandey et al., 2004).

#### Résultats

<u>Analyse descriptive des lames</u>: Pour l'ensemble des lames, les intensités suivent une distribution normale et le bruit de fond est homogène et de faible niveau.

<u>Analyse différentielle</u>: L'analyse différentielle a été réalisée au sein de chacun des 3 dispositifs (MG, F2MG et Lourd) en utilisant la variance commune pour l'ensemble des gènes (Delmar et al., 2005). Les valeurs de « p-value » ont été corrigées par la procédure de test multiple de Benjamini-Hocheberg (BH) avec un risque d'erreur alpha de 5%. La liste de gènes différentiels entre animaux PG- et PG+ comportait 197 gènes pour le modèle MG, 254 gènes pour le modèle F2MG et 52 gènes pour le modèle Lourd (Tableau 2). Les rapports d'expression PG+/PG- sont compris entre 0,26 et 2,69. Parmi les gènes différentiels, assez peu sont communs entre les différents modèles (Figure 1), ce qui suggère des mécanismes de régulation des réserves énergétiques musculaires spécifiques à chacun d'entre eux (Figure 1).

<u>Annotation</u>: L'annotation recueillie pour les gènes présentant un orthologue humain (environ 80%) a permis d'identifier un certain nombre de voies qui interviennent notamment dans la régulation du métabolisme des glucides (glycolyse, néoglucogénèse, métabolisme du glycogène, des pentose phosphate, du pyruvate, etc.) et des acides gras. Certaines voies de signalisation ont aussi été identifiées comme celles d'AKT, de mTOR, de PTEN, de la p70S6 Kinase et de l'insuline, qui contrôlent à la fois les métabolismes glucidique, lipidique et protéique.

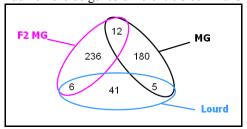
Tableau 1 : Ca	aractéristiques	du muscle	Pectoralis	major pour	les trois	dispositifs.
----------------	-----------------	-----------	------------	------------	-----------	--------------

	MG (n= 8)		F2MG	(n= 8)	LOURD	LOURD (n= 10)		
	PG+	PG-	PG+	PG-	PG+	PG-		
PG (μM/g équivalent lactate)	122a	91b	126a	78b	147a	80b		
pH ultime	5,66b	5,84a	5,55b	5,88a	5,45b	5,91a		
Luminance L*	49,7a	44,1b	50,6a	48,3b	57,8a	51,5b		
Exsudat (%)	1,7a	1,0b	1,2	1,1	2,6a	0,9b		

**Tableau 2 :** Gènes exprimés de façon différentielle entre animaux PG+ et PG-, avec leur différentiel d'expression et le pourcentage de gènes ayant servi pour l'annotation

	MG (n=8)	F2MG (n = 8)	LOURD (n = 10)
Nombre de gènes différentiellement exprimés entre PG+ et PG-	197	254	52
Différentiel d'expression	0.48 <pg+ 2.23<="" pg-<="" td=""><td>0.41 &lt; PG + /PG &lt; 2.69</td><td>0.26 <pg+ 1.91<="" pg-<="" td=""></pg+></td></pg+>	0.41 < PG + /PG < 2.69	0.26 <pg+ 1.91<="" pg-<="" td=""></pg+>
% de gènes annotés	84%	74%	82%

Figure 1 : Représentation du nombre de gènes différentiels communs entre les trois dispositifs.



#### **Conclusions et perspectives**

Cette étude est la première à relier des expressions de gènes à des caractères de qualité de viande chez la volaille. L'étape suivante sera de valider les différentiels d'expression observés sur puce en utilisant une méthode plus quantitative, la qRTPCR. L'analyse du transcriptome est une première étape pour l'identification des gènes impliqués dans les variations de qualité de la viande qu'il sera nécessaire de compléter par des recherches plus poussées notamment sur le polymorphisme des gènes identifiés en relation avec les études de recherches de QTL en cours mais aussi sur l'étude de leur régulation par des facteurs d'élevage.

#### Références

Berri C., Le Bihan-Duval E., Debut M., Sante-Lhoutellier V., Baéza E.; Gigaud V., Jégo Y., Duclos M.J. (2007) Consequence of muscle hypertrophy on characteristics of Pectoralis major muscle and breast meat quality of broiler chickens. J. Anim. Sci., 85: 2005-2011.

Delmar P., Robin S., Daudin J.J. (2005) VarMixt: efficient variance modelling for the differential analysis of replicated gene expression data. Bioinformatics, 21:502-508.

Le Bihan-Duval E., Berri C., Pitel F., Nadaf J., Sibut V., Gigaud V., Duclos M.J. (2008a) Approches combinées de génomique positionnelle et expressionnelle pour l'étude des gènes contrôlant la qualité de la viande chez les volailles. INRA Prod. Anim. (in press).

Le Bihan-Duval E., Debut M., Berri C., Sellier N., Santé-Lhoutellier V., Jégo Y., Beaumont C. (2008b). Chicken meat quality: genetic variability and relationship with growth and muscle characteristics. BMC Genetics (in press). Pandey R., Guru R.K., Mount D.V. (2004) Pathway Miner: extracting gene association networks from molecular pathways for predicting the biological significance of gene expression microarray data. Bioinformatics, 20:2156-2158.

Sibut V., Le Bihan-Duval E., Tesseraud S., Godet E., Bordeau T., Cailleau-Audouin E., Chartrin P., Duclos M. J., Berri C. (2008) AMP-activated protein kinase involved in the variations of muscle glycogen and breast meat quality between lean and fat chickens. J. Anim. Sci. (in press).

# ETUDE DE LA TENDRETE DU MUSCLE PORCIN (*LONGISSIMUS DORSI*) PAR L'ANALYSE DU TRANSCRIPTOME

# LIAUBET L.<sup>1</sup>, LOBJOIS V.<sup>1</sup>, SANCRISTOBAL M.<sup>1</sup>, GLENISSON J.<sup>3</sup>, LE ROY P.<sup>2</sup>, HATEY F.<sup>1</sup>, CHEREL P.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR444 Génétique Cellulaire, Castanet-Tolosan, <sup>2</sup>UMR INRA / AgroCampus Rennes, Génétique Animale, Rennes, <sup>3</sup>France Hybrides, St Jean de Braye

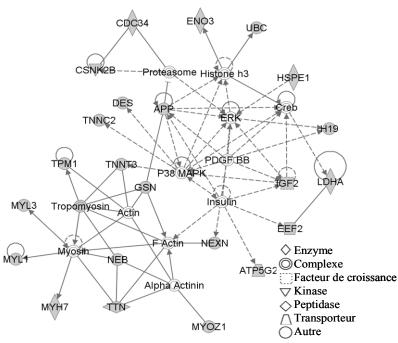
#### Introduction

Les qualités des viandes de porc dépendent des caractéristiques physico-chimiques de celles-ci (Lebret, 2004), caractéristiques elles-mêmes sous l'influence de nombreux facteurs environnementaux (Monin, 2003) et génétiques (Renand et al. 2003). Parmi les qualités sensorielles, la tendreté apparaît comme un critère important du point de vue des consommateurs (Maltin et al. 2003). Les études réalisées chez le porc montrent que différentes caractéristiques histologiques (type des fibres, longueur des sarcomères) et biochimiques (contenu et type de collagène, protéolyse) peuvent contribuer à la variabilité de la tendreté de la viande de porc (Wheeler et al. 2000). Cependant, les mécanismes moléculaires responsables restent à identifier. Dans le cadre d'un projet de génomique comprenant des analyses génétiques, du protéome et du transcriptome à associer avec une cinquantaine de mesures phénotypiques, nous présenterons une première étude ayant pour objectif d'identifier des gènes régulés dans le muscle en fonction de la force de cisaillement sur viande cuite (Warner-Bratzler, WBSF).

#### Matériel et méthodes

Les porcs utilisés étaient des animaux F2 produits à partir de deux lignées mâles commercialement utilisées pour la production de verrats terminaux (lignée FH016, de type Piétrain, et lignée FH019, lignée synthétique issue de fondateurs Large White, Duroc et Hampshire, France Hybrides). Des échantillons de muscle *Longissimus dorsi* ont été prélevés peri-mortem. Ces échantillons ont subi une cuisson dans des conditions standards. La force de cisaillement (WBSF, Shackelford et al. 2004) obtenue était la moyenne sur 10 mesures. Le transcriptome de 30 échantillons de muscle (deux échantillons extrêmes par famille F2, un haut, un bas) a été analysé, leurs WBSF variaient entre 22,68 et 55,47 Newtons.

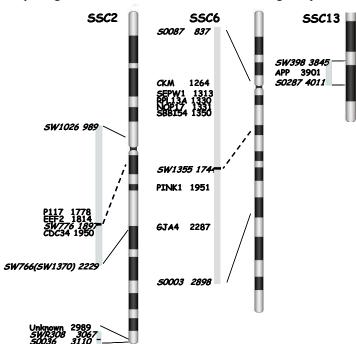
Les ARN extraits à partir du *Longissimus dorsi* ont été hybridés après marquage radioactif sur des microarrays Nylon non commerciaux de 3456 clones provenant essentiellement d'une banque d'ADNc musculaire (GPL2731, <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/geo/query/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/geo/query/</a>). Ferré et al. (2007) et Lobjois et al. (2008) détaillent les procédures d'acquisition, de normalisation et les analyses statistiques des données.



**Figure 1**: Nouveau réseau incluant 23 gènes différentiels essentiellement impliqués dans le développement et la morphologie du tissu musculaire. Le logiciel étant interactif, tous les liens peuvent être vérifiés en retournant aux données bibliographiques.

#### Résultats et discussion

L'analyse du transcriptome des 30 échantillons s'est révélée complexe. Notamment, nous n'avons pu appliquer un modèle de régression linéaire entre la tendreté et les variations d'expression des gènes que pour les 17 échantillons avant une force de cisaillement WBSF > 30 N. Ainsi, 63 gènes différentiels ont été identifiés (FDR < 5 %). Le logiciel Ingenuity® Pathways (http://www.ingenuity.com) a été utilisé pour faciliter l'annotation fonctionnelle des gènes; ce logiciel recherche par fouille des données bibliographiques les liens pouvant exister entre les gènes différentiels et d'autres gènes, un test statistique estime si la représentation des gènes différentiels est significative dans le réseau proposé. Ainsi, 35 gènes ont été regroupés dans 3 réseaux de gènes (Lobjois et al. 2008). La Figure 1 présente un nouveau réseau. En effet, les données bibliographiques utilisées par Ingenuity® Pathways pour construire les réseaux évoluent. Ce nouveau réseau inclut 23 gènes différentiels essentiellement impliqués dans le développement et la morphologie du tissu musculaire. Les données d'Ingenuity® Pathways concernent essentiellement l'homme, la souris et



**Figure 2**: Localisation de 12 gènes dans 4 QTL tendreté pour le porc (d'après Lobjois et al. 2008). Les gènes ont été localisés précisément sur le génome porcin par rapport aux marqueurs (en italique) utilisés pour les QTL.

le rat. Les réseaux de gènes proposent aussi des liens avec des gènes dont les modalités d'expression ne sont pas connues dans notre système; ici, parce que les gènes sont absents de la puce.

Il était intéressant également de savoir si certains des gènes identifiés co-localisent, dans un premier temps, avec des QTL tendreté déjà publiés chez le porc afin de savoir si nous pouvions proposer des gènes candidats positionnels. Ainsi, 12 gènes (Figure 2, Lobjois et al. 2008) ont été localisés dans 4 régions chromosomiques d'intérêt sur les chromosomes 2 (Rohrer et al. 2006, Malek et al. 2001), 6 (Szyda et al ; 2003) et 13 (Koning et al. 2001)

Les gènes candidats positionnels choisis pour rechercher les polymorphismes responsables des variations observées aux QTL sont souvent choisis sur la base de leur fonction supposée dans le tissu étudié. Ici, l'utilisation du transcriptome permet de proposer des gènes qui n'auraient pas forcément retenus l'attention sur la seule base de leur fonction (comme les gènes de fonction inconnue ou pour lesquels il n'existe que très peu d'informations bibliographiques).

#### **Perspectives:**

Cette étude a été réalisée dans le cadre d'un projet qui inclue la recherche de QTL pour plusieurs critères de qualité de la viande, des études du protéome (Sayd et al. 2006, Laville et al. 2007) et du transcriptome. L'objectif est d'utiliser les données d'expression pour une caractérisation plus fine des phénotypes afin de rechercher des QTL d'intérêt et afin d'orienter les produits vers une utilisation adaptée. Une nouvelle approche est en cours d'analyse, la recherche de eQTL (QTL d'expression) qui permet d'identifier les régions chromosomiques régulant l'expression (transcrits ou protéines) et pour lesquelles il existe des variants génétiques dans la population analysée. L'intégration des données génétiques et fonctionnelles, ainsi que l'utilisation de méthodes statistiques appropriées, devraient permettre d'identifier des marqueurs de qualité. Déjà, la conjonction des approches statistiques de prédiction sur la base des données transcriptomiques et des données génétiques a permis de proposer un transcrit comme candidat positionnel avec l'identification d'un polymophisme en cours de confirmation. D'autre part, la comparaison et l'intégration des données issues des analyses du transcriptome et du protéome permettent d'affiner la compréhension des mécanismes moléculaires de la tendreté chez le proc.

#### Références

de Koning D.J., Harlizius B., Rattink A.P., Groenen M.A., Brascamp E.W., van Arendonk J.A., 2001. J. Anim. Sci., 79, 2812-9. Ferre P.J., Liaubet L., Concordet D., SanCristobal M., Uro-Coste E., Tosser-Klopp G., Bonnet A., Toutain P.L., Hatey F., Lefebvre H.P., 2007. Pharmaceutical Research 24, 1480-9.

Laville E., Sayd T., Terlouw C., Chambon C., Damon M., Larzul C., Leroy P., Glenisson J., Cherel P., 2007. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55, 5834-41.

Lebret B., 2004. Productions animales, 17, 79-91.

Lobjois V., Liaubet L., SanCristobal M., Glenisson J., Feve K., Rallieres J., Le Roy P., Milan D., Cherel P., Hatey F., 2008. Animal Genetics 39, 147-62.

Malek M., Dekkers J.C., Lee H.K., Baas T.J., Prusa K., Huff-Lonergan E., Rothschild M.F., 2001. Mammalian Genome 12, 637-45. Monin G., 2003. Productions animales, 16, 251-262.

Maltin C., Balcerzak D., Tilley R., Delday M., 2003. Proc. Nutr. Soc., 62, 337-47.

Renand G., Larzul C., Le Bihan-Duval E., Le Roy P., 2003. Productions animales, 16, 159-173.

Rohrer G.A., Thallman R.M., Shackelford S., Wheeler T., Koohmaraie M., 2006. Animal Genetics 37, 17-27.

Sayd T., Morzel M., Chambon C., Franck M., Figwer P., Larzul C., Le Roy P., Monin G., Cherel P., Laville E., 2006. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54, 2732-7.

Shackelford S. D., Wheeler T. L., Koohmaraie M., 2004. J. Anim. Sci., 82, 238-41.

Szyda J., Grindflek E., Liu Z. & Lien S. (2003). Genetical Research 81, 65-73.

Wheeler T. L., Shackelford S. D., Koohmaraie M., 2000. J. Anim. Sci., 78, 958-65.

# Posters Génomique

# APPORT DE LA PROTEOMIQUE A L'ETUDE DE LA MYOGENESE CHEZ LE BOVIN : NOUVELLES PISTES DE RECHERCHES POUR COMPRENDRE L'ORIGINE DE LA QUALITE DE LA VIANDE

## CHAZE T.<sup>1</sup>, MEUNIER B.<sup>1</sup>, CHAMBON C.<sup>2</sup>, PICARD B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unité de recherches sur les Herbivores, équipe Croissance et Métabolisme du Muscle <sup>2</sup>Plateforme Exploration du métabolisme : des gènes aux métabolites, atelier Protéomique, Centre INRA Clermont Ferrand Theix

#### Introduction

Les qualités sensorielles de la viande bovine (tendreté et flaveur notamment) sont explicables, en partie, par les caractéristiques du muscle adulte. Chez le bovin ces caractéristiques se mettent en place principalement au cours du développement embryonnaire et fœtal, il apparaît donc très important d'étudier les mécanismes de mise en place du tissu musculaire, sa différentiation et maturation, dans l'objectif de comprendre l'origine de la qualité sensorielle de la viande bovine.

Des études antérieures ont montré que la mise en place du tissu musculaire chez le bovin était comparable à celle des modèles murins et aviaires étudiés classiquement en biologie du développement ainsi qu'à d'autres animaux d'intérêt agronomique (Picard et al, 2002). Ces études chez le bovin ont ainsi mis en évidence une phase de prolifération des deux générations de myoblastes au cours des deux premiers tiers de vie fœtale, jusqu'à 180 jours post-conception (pc), date à laquelle le nombre total de fibre est fixé. Le dernier tiers de vie fœtale est caractérisé principalement par une phase de différenciation métabolique et contractile et par la maturation des fibres. Ces études ont aussi permis de mettre en évidence des stades clefs représentatifs de ces phases de développement comme illustré dans la figure 1.

Dans le but d'enrichir nos connaissances sur l'ontogenèse musculaire bovine, une approche protéomique (gels

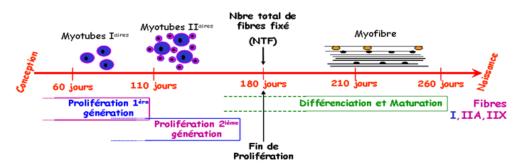


Figure 1: Schématisation de la myogenèse bovine. Pour notre étude, cinq stades caractéristiques des deux grandes phases de développement ont été retenus.

bidimensionnels spectrométrie de masse) été conduite, complément des approches classiques d'histologie et de biochimie utilisées laboratoire, pour mettre évidence dynamique du protéome musculaire au cours du développement foetal.

### Matériel et méthodes

Des génisses représentatives de la race charolaise ont été inséminées avec du sperme de taureau Charolais représentatif à l'Installation Expérimentale de l'URH, tous les animaux ont été abattus à l'abattoir expérimental de l'URH et les fœtus ont été récupérés dès abattage de la mère.

Le muscle *semitendinosus* (ST) a été prélevé sur tous les fœtus. Quatre fœtus, issus de quatre génisses différentes, ont été retenus pour chacun des 5 stades clefs de l'étude. Quatre réplicas techniques d'électrophorèse bidimensionnelle ont été réalisés pour l'analyse protéomique portant à 16 le nombre de gels représentatifs d'un stade de développement et à 80 le nombre total de gels à analyser.

L'analyse des données de protéomique a été conduite selon deux stratégies complémentaires : i) une analyse statistique permettant la recherche de spots présentant un différentiel entre deux stades de développement successifs et ii) une analyse plus large de l'évolution du protéome musculaire au cours de la myogenèse par classification hiérarchique des spots communs aux stades de développement permettant de mettre en évidence des profils d'expression communs de plusieurs protéines au cours du développement.

L'ensemble des spots d'intérêt révélés par ces deux approches a été identifié par spectrométrie de masse MALDI-TOF. L'analyse biologique a été menée grâce à l'utilisation d'outils de *text mining* et des outils liés à la *Gene Ontology (suite Babelomics)*.

#### Résultats et Discussion

Le volume de 496 spots protéiques a pu être comparé entre les différents stades de développement grâce aux deux approches exploratoire et statistique complémentaires. Deux cent quarante huit protéines ont été identifiées par spectrométrie de masse et analysées par bioinformatique. L'exploitation bioinformatique et la caractérisation fonctionnelle des protéines identifiées ont permis :

- de mettre en évidence les protéines ayant un différentiel d'expression majeur dans la transition entre deux stades consécutifs,
- de mettre en évidence le profil d'expression cinétique des 157 protéines communes aux trois premiers stades de développement (Chaze et al, 2008 a) et des 169 protéines communes aux trois derniers stades de développement (Chaze et al, b). L'étude par classification hiérarchique des deux périodes du développement musculaire chez le bovin a permis la caractérisation fonctionnelle, par les termes de la *Gene Ontology*, des clusters de protéines présentant les mêmes profils d'expression au cours de la myogenèse (figure 2 et 3).

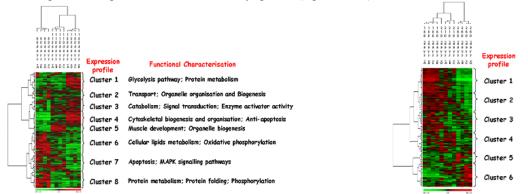


Figure 2: Classification hiérarchique et caractérisation fonctionnelle des 157 protéines communes au trois premiers stades de développement retenus.

Figure 3 : Classification hiérarchique et caractérisation fonctionnelle des 169 protéines communes au trois derniers stades de développement retenus.

Functional Characterisation

Cellular protein metabolic process

Cell development; Cell death

Si l'analyse combinée des différentes approches a permis dans un premier temps de confirmer les connaissances concernant les grands mécanismes participant à la formation du tissu musculaire chez le bovin, elle a permis avant tout d'apporter un nouveau point de vue concernant la myogenèse *in vivo*. En effet, l'analyse en classification hiérarchique des trois premiers temps de gestation a révélé un assez grand nombre de cluster d'expression caractérisés par des termes précis de la *Gene Ontology* (figure 2) relatifs pour la plupart à la prolifération et la mort cellulaire (Chaze et al, 2008 a). Cette caractérisation est soutenue pour un grand nombre de protéines différentiellement exprimées entre les trois premiers stades de développement suggérant que pendant les deux premiers tiers de vie fœtal le contrôle de la balance prolifération cellulaire et apoptose est primordial. De plus, l'analyse statistique apporte de nouvelles informations quant à la mise en place du tissu avec potentiellement de nouveaux marqueurs liés à la régulation du nombre total de fibres fixé à 180 jours pc (protéines WARS et DJ1) et d'autres marqueurs qui seraient spécifiques de la prolifération des deux générations de myoblastes (CLIC4 pour les myoblastes primaires, HnRNPK pour la deuxième génération de myoblastes).

Le dernier tiers de vie fœtal a surtout été marqué par un nombre plus faible de protéines différentiellement exprimées et un nombre plus important de protéines communes à cette période. L'analyse en classification hiérarchique des protéines communes à ce dernier tiers de gestation a révélé un nombre plus faible de clusters caractérisés cette fois-ci par des termes de *Gene Ontoloy* plus vagues et moins nombreux. Cela suggère que cette phase de différenciation contractile et métabolique est surtout marquée par un nombre conséquent de changement d'isoformes des protéines contractiles ou métaboliques (chaînes légères de myosine, troponine T lentes ou rapides ou encore les énolase alpha et béta) (Chaze et al, 2008 b).

#### Conclusions

Le travail effectué a permis la constitution d'une banque de données protéiques relative au développement musculaire *in vivo* riche de 248 protéines. Cette base de données sera utilisée dans le cadre de comparaison avec des types génétiques de bovins différents et dans le cadre d'analyse en biologie comparée avec d'autres espèces d'intérêt agronomique (poulet et porc).

L'intégration de l'ensemble de ces données protéomiques avec les données issues des analyses antérieures semble être maintenant nécessaire pour comprendre les mécanismes plus fins (promoteurs et facteurs de transcription communs à rechercher) contrôlant les grandes étapes de la mise en place du tissu musculaire.

#### Références bibliographiques

Chaze T. (a), Meunier B., Chambon C., Jurie C., Picard B. 2008, Proteomics, in press.

Chaze T. (b), Meunier B., Chambon C., Picard B. 2008, Animal soumis.

Picard B., Lefaucheur L., Berri C., Duclos M. 2002, Reproduction Nutrition Developpement, 42, 415-431.

#### Remerciements

A l'ensemble du personnel des installations expérimentales de l'INRA et l'ensemble du personnel de l'abattoir expérimental de l'INRA de Theix pour la qualité des échantillons fournis.

A l'ensemble de l'équipe Croissance et Métabolisme du Muscle pour les prélèvements musculaires.

Au personnel de l'atelier protéomique de la plateforme « Exploration du métabolisme : des gènes aux métabolites ».

### CIBLES MOLECULAIRES DE LA MYOSTATINE IMPLIQUEES DANS L'HYPERTROPHIE MUSCULAIRE CHEZ LA SOURIS ET LE BOVIN

## CHELH I, MEUNIER B, PICARD B, HOCQUETTE J-F, CASSAR-MALEK I

INRA, UR1213, Unité de Recherches sur les Herbivores, Equipe Croissance et Métabolisme du Muscle, Centre Clermont-ferrand/Theix, Saint-Genès-Champanelle, FRANCE.

#### Introduction

La Myostatine (MSTN), un membre de la superfamille du TGF-β, est un régulateur négatif de la masse musculaire squelettique. Des mutations "perte de fonction" dans le gène de la gène MSTN sont responsables d'un phénotype hypermusclé chez la Souris (McPherron *et al.*, 1997) et chez le Bovin culard (Grobet *et al.*, 1997). L'objectif principal de cette étude était d'identifier de nouvelles cibles moléculaires de la MSTN par rapport à celles déjà décrites dans la littérature (Bouley *et al.*, 2005) impliquées dans la régulation de la masse musculaire.

#### Matériel et méthodes

Les profils protéomiques des muscles Quadriceps de souris knock-out MSTN (McPherron *et al.*, 1997) âgées de 5 semaines et de leurs témoins (obtenues en collaboration avec J. Reecy de l'université Iowa, USA) ont été analysés par électrophorèse bidimensionnelle (gradient de pH4-7) suivie d'une analyse différentielle (Test SAM, FDR <5%; Meunier et al., 2005) et d'une analyse en spectrométrie de masse (réalisée à la Plateforme de Theix "Exploration du Métabolisme: des gènes aux métabolites"). Ils ont été comparés entre les deux groupes d'animaux. Une analyse transcriptomique a été réalisée en parallèle utilisant des puces oligonucléotidiques (Myochips, Genopôle Ouest) suivie d'une analyse différentielle (Test SAM, FDR <5%). Les données issues de ces deux analyses de génomique ont été explorées à l'aide des outils bioinformatiques (Genomatix, David, String...).

Les principaux gènes et protéines révélés différentiellement exprimés chez les souris ont été validés par westernblot et par qPCR. De plus, nous avons quantifié l'abondance de protéines d'intérêt, initialement identifiées chez la souris, dans deux types d'échantillons musculaires de bovins culards et leurs témoins (fœtus âgés de 260 jpc et vaches culardes issus du troupeau INRA 95 du domaine Carmaux) par western-blot.

### Résultats et Discussion

L'analyse protéomique a révélé une différence d'abondance de 38 spots protéiques parmi les 660 spots détectés dont 20 spots étaient sur-abondants et 18 spots sous-abondants. Elle a confirmé une orientation glycolytique des muscles suite à l'inactivation de la MSTN (sur-expression de MyBP, MyHCII et sous-expression de H-FABP) et montré une augmentation de l'abondance de facteurs de survie cellulaire/anti-apoptotiques (DJ-1, protéine 14-3-3 & TCTP)

L'analyse transcriptomique a mis en évidence la sur-expression de 192 gènes et la sous-expression de 245 gènes sur les 6473 gènes présents sur la puce. La comparaison du profil transcriptomique a montré que les gènes impliqués dans les voies PI3Kinase [PI3K] (Inppl1, PIK3R3, PIK3CG, PLCG1), le métabolisme des glucides (PDHA1 B4Galt6, G6pdx, Gyg), et la régulation négative de l'apoptose (Rtn4, Dad1, Survivin, PIK3cq) ont été sur-exprimés. Les gènes appartenant aux voies Wnt canonique (Gsk3b, LRP5, Camk2a, LEF1), signalisation calcique (PDE1B, Camk2a, CAMK4, Cacna1i, HTR2A, ADORA2A) et participant aux interactions Cytokine-récepteur Cytokine (IL23A Cxcl15, CXCR3, IL17, Cxcl13) ont été sous-exprimés.

Les différentiels d'expression ou d'abondance de différents candidats, impliqués dans le métabolisme énergétique, la voie PI3K/Akt et la voie de la régulation de l'apoptose, ont été validés chez la souris (cf tableau 1). Les principaux candidats testés chez la souris sont en cours de validation dans les muscles des Bovins (cf tableau 1).

Ces résultats suggèrent qu'en absence de MSTN fonctionnelle, la cascade PI3K/Akt est activée favorisant ainsi la prolifération et la survie cellulaire via l'inactivation de la GSK-3β (Cully *et al*, 2006). Ceci pourrait contribuer à limiter la perte par apoptose des myonuclei, facteur déterminant pour la synthèse des protéines musculaires. Ce processus pourrait impliquer la protéine DJ-1, un activateur indirect de la voie PI3K par inhibition de l'activité du suppresseur de tumeur PTEN (Kim *et al.*, 2005). La protéine 14-3-3ε, un membre de la famille de protéines régulatrices 14-3-3 impliquée dans l'inhibition de l'apoptose par séquestration des protéines pro-apoptotiques telles que BAD (Bcl-2-antagonist of cell death) (Datta *et al.*, 2004) pourrait contribuer également à la survie.

Ce résultat est en accord avec l'hypothèse de Yang *et al.* (2007) suggérant que la MSTN est impliquée dans l'inactivation de la cascade PI3K/Akt et l'activation de la GSK-3β. Or cette dernière est un important modulateur du signal pro-apoptotique, ce qui pourrait contribuer à l'atrophie musculaire. L'inhibition de la survie cellulaire initiée par la voie PI3K pourrait impliquer l'inhibition de la protéine DJ-1, ou un changement de l'expression de la protéine PTEN. Un changement dans l'expression de la protéine 14-3-3 pourrait également participer à l'action pro-apoptotique de la MSTN.

	Validations on Western Dist					
1	Validations par Western-Blot					
	Génomique	Souris KO MSTN (n=4)	Bovins Culards			
			Fœtus (n=3)	Vaches (n=4)		
	Fold Change (FC)					
DJ-1	1.5	2,2 *	6,9 ***	1,6 *		
MYBPH	3.1	1,4 **	1,4 *	ND		
TCTP	2.7	1,6 *	1,9 *	1,1 NS		
1433E	1.8	1,7 **	1,5 NS	ND		
SNTA1	1.5	2,8 *	2,3 *	1,3 *		
FABPH	2.1	9,1 *	ND	2,1 **		
GRP75	1.5	2,1 *	ND	ND		
PINK1	1.9	3,4 *	2,8 *	ND		
GSK3β	1.9		1,8 t	1,9 t		
GSKser9/GSKtotal		1,7 t	ND	ND		
MyHCII		4,9 *	ND	ND		
CASP8		2,5 **	ND	ND		
Daxx		2,2 t	ND	3,6 **		
Pten		4,2 *	ND	3,9 t		
p-Akt		2,2 *	ND	ND		

**Tableau 1**: Expression différentielle des candidats potentiels de la MSTN par western-blot chez la souris et le bovin

Test t-Student: t P < 0.10; \* P < 0.05; \*\* P < 0.01; \*\*\* P < 0.001; NS: Non significatif; ND: Non déterminé.

#### Conclusion

Ces données montrent une expression différentielle de gènes et de protéines liés au métabolisme énergétique musculaire et à la survie des cellules (Dad1, survivin, DJ-1, PINK1, TCTP, HSP9A, GSK-3β). Elles suggèrent que la MSTN pourrait arbitrer la survie des cellules, la croissance et la différenciation cellulaires en régulant la cascade PI3K/Akt et l'activité de la GSK-3β. Ce mécanisme pourrait impliquer notamment la protéine DJ-1. Cette étude révèle des signatures moléculaires associées à la perte de fonction MSTN et devrait permettre l'identification de réseaux de gènes ou de protéines susceptibles d'être impliqués dans l'hypertrophie musculaire chez la Souris et le Bovin.

#### Références bibliographiques

Bouley J., Meunier B., Chambon C., De Smet S., Hocquette J-F., Picard B., 2005. Proteomics, 5: 490-500. Cassar-Malek I., Passelaigue F., Bernard C., Léger J., Hocquette J.F., 2007. BMC Genomics, 1(8):63.

Cully M., You H., Arnold J., Levine A. J. and Mak T. W., 2006. NatRev Cancer 6(3): 184-192.

Datta S.R., Katsov A., Hu L., Petros A., Fesik S.W., Yaffe M.B., Greenberg M.E., 2000. Mol Cell, 6(1): 41-51. Grobet L., Martin L.J., Poncelet D., Pirottin D., Brouwers B., Riquet J., Schoeberlein A., Dunner S., Menissier F., Massabanda J., Fries R., Hanset R., Georges M., 1997. Nat Genet, 17: 71-74.

Kim R.H., Peters M., Jang Y, Shi W, Pintilie M, Fletcher GC, DeLuca C, Liepa J, Zhou L, Snow B., Binari R.C., Manoukian A.S., Bray M.R., Liu F.F., Tsao M.S., Mak T.W., 2005. Cancer Cell, 7: 263-273.

McPherron A.C., Lawler A.M., Lee S.J. 1997. Nature, 387: 83-90.

Meunier B. Bouley J., Piec I., Bernard C., Picard B., Hocquette J.F., 2005. Anal. Bioch., 340: 226-230.

Yang W., Zhang Y., Li Y., Wu Z., and Zhu D., 2007. J. Biol. Chem., 282(6): 3799-3808.

#### Remerciements

- à James REECY, Iowa State University, Animal Science Department, 2255 Kildee Hall, Ames, Iowa, USA.
- à Catherine CHEVALIER, PT transcriptome, Ouest Génopole, Institut du Thorax, Faculté de Médecine 1, Nantes, FRANCE.
- à Christiane BARBOIRON, Geneviève GENTES et Nicole DUNOYER de leur assistance technique.
- à Christophe CHAMBON, de la Plateforme de Theix "Exploration du Métabolisme: des gènes aux métabolites".

# ANALYSE METABOLOMIQUE DU MUSCLE SQUELETTIQUE- COMPARAISON DE DIFFERENTES METHODES D'EXTRACTION POUR LA QUANTIFICATION RELATIVE DU METABOLOME EN LC-MS/MS.

## EL RAMMOUZ R. 1,3, LETISSE F.2, WADIH MOUSSA Z.1, FERNANDEZ X.1

<sup>1</sup> UMR 1289 INRA/ INP-ENSAT/ ENVT TANDEM "Tissus Animaux, Nutrition, Digestion,
 Ecosystème, Métabolisme" ENSAT, Avenue de l'Agrobiopole, 31326 Castanet – Tolosan Cedex;
 Plate-forme Métabolomique et Fluxomique Toulouse Midi-Pyrénées, LISBP/INSAT, UMR5504,
 UMR792, CNRS, INRA, INSA, 135 Avenue de Rangueil, 31077 Toulouse Cedex 04, France;
 Université Libanaise, Faculté d'Agronomie, Beyrouth, Dekwaneh, Liban

#### Introduction

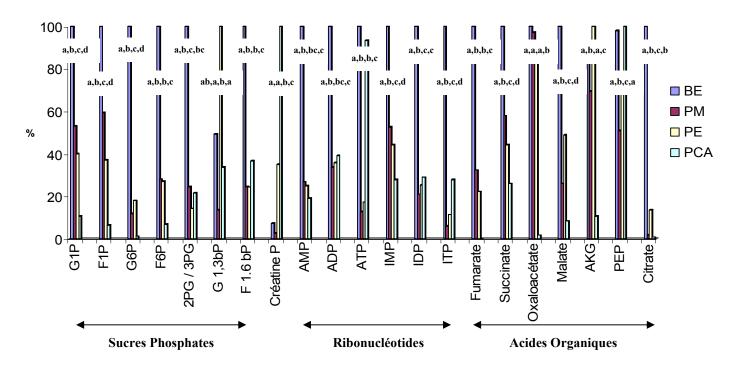
Les termes « métabolome et métabolomique » ont été introduits, pour la première fois en 2002, par Oliver Fiehn. Le métabolome correspond à l'ensemble des métabolites de bas poids moléculaire présents dans une cellule, un tissu ou un organisme. La métabolomique est la mesure qualitative et/ou quantitative du métabolome, son objectif est d'établir un lien entre l'expression génomique et phénotypique, afin de déterminer le fonctionnement global d'un système métabolique (Fiehn 2007). L'intérêt de la métabolomique est qu'il est possible d'identifier et de quantifier un grand nombre de métabolites simultanément. Cependant elle comporte quelques inconvénients sur certains aspects préparatifs et analytiques. En effet, la préparation des échantillons est une étape très importante, des pertes des métabolites pendant l'étape d'extraction peuvent se produire et fausser la quantification (De Koning 1992). Par conséquent, la méthode choisie doit favoriser l'extraction du plus grand nombre de métabolites, ne pas exclure des molécules avec des propriétés physico-chimiques particulières et enfin, conserver l'intégrité structurale et fonctionnelle des métabolites. Récemment, plusieurs auteurs (e.g. Villas-Bôas 2005, Lin 2007) ont étudié différentes méthodes d'extraction du métabolome du muscle squelettique n'ont jamais été étudiées. Ainsi, dans cette étude, nous avons comparé quatre méthodes d'extraction du métabolome musculaire, déjà utilisées pour la biomasse microbienne, afin de choisir le protocole d'extraction le plus efficace du point de vue qualité, quantité et facilité d'application.

#### Matériel et Méthodes

L'étude porte sur cinq dindes mâles de lignée BUT 9 (BUT : British United Turkey ; 12 s, ~10kg) choisies au hasard en bout de chaîne d'abattage. À 20 minutes *post mortem*, des échantillons de 5 g sont prélevés sur le muscle pectoral de chaque oiseau et sont immédiatement congelés dans de l'azote liquide. Ces échantillons sont ensuite broyés dans l'azote liquide et les 5 échantillons réduits en poudre sont mélangées, broyés une seconde fois pour constituer un échantillon unique qui est stocké à -80°C jusqu'à l'extraction. Quatre méthodes d'extraction sont étudiées : extraction dans de l'eau ultra pure MilliQ bouillante à +100°C (EB) adaptée de Bhattacharya (1995) et technique modifiée et validée par les chercheurs de la plateforme métabolomique et fluxomique de l'INSA de Toulouse, méthanol pur froid à -80°C (PM) (Maharjan 2003), éthanol pur bouillant à +80°C (PE) adaptée de Maharjan (2003) et Villas-Bôas (2005), et acide perchlorique à -20°C (PCA) (Dalrymple 1973). La séparation et l'identification des métabolites sont réalisées par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) selon Groussak (2000) et Kiefer (2007), respectivement. Trois injections (15 µl) par extraction sont réalisées. Pour chacun des composés, l'aire du pic sur le spectre de masse est enregistrée et exprimée en base 100 en prenant comme référence l'aire maximale obtenue par l'une des techniques d'extraction. Les analyses statistiques sont réalisées en utilisant la procédure GLM (General Linear Model) du logiciel SAS (SAS Institute, 1989). Les moyennes sont comparées en utilisant le test de Duncan (Duncan's multiple range test). Les différences significatives sont rapportées pour p<0.05.

### Résultats et discussion

Cette étude montre que l'extraction à l'eau bouillante est la plus efficace au niveau qualité (tous les composés d'intérêt sont extraits), quantité relative (P < 0.05; figure 1), variabilité (CV < 10%; résultats non montrés) et facilité de manipulation. La figure 1 illustre l'efficacité des 4 méthodes d'extraction utilisées dans cette expérience. Pour les sucres phosphate, en moyenne, l'extraction dans l'eau bouillante est la plus efficace suivie par le PE, PM et le PCA. Le mauvais résultat obtenu avec le PCA est en accord avec une étude antérieure réalisée chez la levure par Villas Bôas, (2005). En effet, les conditions de valeurs de pH extrêmes (pH basique ou acide) induisent la dégradation de certains métabolites et la neutralisation pendant l'extraction peut provoquer la perte de métabolites par précipitation avec les sels formés ( $KClO_4$ ) (De Koning 1992). Pour les ribonucléotides, l'extraction dans du PCA est meilleure quantitativement que celle du méthanol et éthanol (P < 0.05) (voir figure 1). Ce résultat est en accord avec celui de Buchholz (2001) qui rapporte que le PCA est couramment utilisé dans les extractions des nucléotides.



Les lettres différentes indiquent une différence significative à P<0.05

Figure 1: Efficacité des quatre méthodes d'extraction. Chaque barre correspond à la surface relative du pic de masse. Pour chaque métabolite, la méthode d'extraction la plus efficace est normalisée à 100% (α-cétoglutarate=AKG, Phosphoénolpyruvate=PEP)

Dans le cas particulier de l'ATP, l'extraction dans l'eau bouillante ou le PCA est beaucoup plus importante que dans le méthanol et l'éthanol (100 et 93 VS 13 et 17% respectivement). Ce résultat confirme les travaux de Bessho (1991) qui, en comparant deux méthodes d'extraction dans le muscle cardiaque de rat, rapporte que le PCA extrait jusqu'à 87% de l'ATP présent dans le tissue alors que l'éthanol (85%) extrait une très petite quantité ne dépassant pas 18%. Cette expérience confirme aussi le résultat de Villas Bôas (2005) qui rapporte que l'extraction des acides organiques dans l'éthanol et le méthanol est beaucoup plus efficace que dans le PCA. Bien que le PCA n'extraie pas le fumarate il extrait la plus grande quantité de PEP.

#### **Conclusions**

Ce travail a permis de classer les 4 différentes méthodes d'extraction étudiées pour la quantification du métabolome musculaire, selon leur efficacité et leur reproductibilité (coefficient de variation), dans l'ordre décroissant suivant : eau bouillante (EB) > méthanol pur froid (PM) > acide perchlorique (PCA) >= éthanol pur bouillant (PE). L'extraction dans l'eau bouillante semble la méthode la plus favorable mais elle présente le défaut de très faiblement extraire la phosphocréatine.

#### Références bibliographiques

Bessho M., Ohsuzu F., Yanagida S., Sakata N., Aosaki N., Tajima T., Nakamura H., 1991. Anal Biochem., 192 (1): 117-24.

Bhattacharya M., Fuhrman L., Ingram A., Nickerson K. W., Conway T., 1995. Anal. Biochem., 232: 98-106.

Buchholz A., Takors R., Wandrey C., 2001. Anal. Biochem., 295: 129-137.

Dalrymple R. H., Hamm R., 1973. J. Food Technol., 8: 439-444.

De Koning W., Van Dam K., 1992. Anal. Biochem., 204: 118-123.

Fiehn O., Robertson D., Griffin J., Van Der Werf M., Nikolau B., Morrison N., Sumner L. W., Goodacre R., Hardy N. W., Taylor C., Fostel J., Kristal B., Haddurah-Daouk R., Mendes P., Ommen B. V., Lindon J. C., Sansone S-A., 2007. Metabolomics, 3: 175-178.

Groussac E., Ortiz M., Francois J., 2000. Enzyme Microb. Technol., 26: 715-723.

Kiefer P., Nicolas C., Letisse F., Portais J-C., 2007. Anal. Biochem., 360: 182-188.

Lin C. Y., Huifeng W., Tjeerdema R. S., Viant M. R., 2007. Metabolomics, 3 (1): 55-67.

Maharjan R. P., Ferenci T., 2003. Anal. Biochem., 313: 145-154.

Villas-Bôas S. G., Hojer-Pederson J., Akesson M., Smedsgaard J., Nielsen J., 2005. Yeast, 22: 1155-1169.

# VALIDATION DE MARQUEURS PROTÉIQUES DE LA TENDRETÉ DE LA VIANDE BOVINE : CHOIX MÉTHODOLOGIQUES

# GUILLEMIN N., MEUNIER B., LEVEZIEL H.<sup>(1)</sup>, G. RENAND<sup>(2)</sup>, J. LEPETIT<sup>(3)</sup>, J-F. HOCQUETTE, PICARD B.

UR 1213 Unité de Recherches sur les Herbivores, INRA Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle

- (1): Unité de Génétique Moléculaire Animale, INRA-Université de Limoges, 87063 Cedex
- (2) INRA, UR337, 78352 Jouy-en-Josas
- (3) INRA, UR370, 63122 Sait-Genès-Champanelle

#### Introduction

La tendreté de la viande bovine est un critère d'appréciation essentiel aux yeux du consommateur. Cette qualité sensorielle, dépendante des nombreuses caractéristiques du muscle, est multifactorielle, et sujette à une grande variabilité. Celle-ci n'est pas maîtrisée par la filière et constitue une source d'insatisfaction pour les consommateurs.

Différentes études ont mis en évidence des marqueurs protéiques de la tendreté par des approches génomiques à haut débit. Ceci a permis de dégager une liste de marqueurs potentiellement impliqués dans la tendreté de la viande.

Afin d'apporter à la filière française des outils de prédiction du potentiel de tendreté, ces marqueurs doivent être validés dans d'autres races à viande françaises, dans différents types de muscles et d'animaux. Pour cela, des analyses quantitatives seront effectuées sur des échantillons de tendreté différente.

L'objectif de cette étude est de déterminer parmi les techniques disponibles (Western Blot et Dot Blot, associé à une révélation chémiluminescente ou fluorescente) laquelle est la plus adaptée pour dégager des différences entre lots d'animaux pour les marqueurs d'intérêt. Les essais sont faits avec l'exemple de la Heat Shock Protein (Hsp) 27 pour laquelle des différences ont été mise en évidence entre lots de tendreté extrême par analyses protéomiques et transcriptomiques (Programme Genanimal MUGENE).

#### Matériel et Méthode

<u>Echantillons</u>: les échantillons ont été préparés d'après la technique de Bouley *et al* (2004) à partir d'extraction protéiques en tampon d'électrophorèse dénaturant de muscle *Longissimus Thoracis* (LT), prélevés sur des taurillons Charolais. La tendreté de la viande a été évaluée par un jury d'analyse sensorielle et par des analyses mécaniques. Les animaux ont été séparés en deux groupes de 4 de tendreté extrême, faible (T-) et élevée (T+).

Anticorps primaire : la spécificité de l'anticorps anti Hsp27 (Santa Cruz) a été validée au préalable sur muscle bovin par Western Blot.

Western Blot: pour chaque animal, 15 μg de protéines totales ont été déposés en une fois sur un gel SDS-PAGE monodimensionnel de 10 pistes à 12% d'acrylamide. 15 μg de protéines d'un mélange des 8 individus présents en quantité égale sont également déposées comme témoin de normalisation. Le transfert sur membrane PVDF a été réalisé en phase liquide par le TransBlot Biorad, suivi par une phase de saturation par du lait écrémé à 10%. L'anticorps primaire anti-Hsp27 est dilué au 1/8000 et hybridé à 37°C pendant 1 heure. Chaque Western Blot est répété 8 fois afin d'évaluer la variabilité technique.

<u>Dot Blot</u>: pour chaque animal, 15 μg de protéines totales ont été déposées 6 fois (aléatoirement afin d'évaluer la variabilité technique) sur une membrane en nitrocellulose, en utilisant une plaque de dépôt 48 puits (Scleider et Schuell). La membrane a été saturée dans une solution de lait écrémé à 10%. L'anticorps primaire anti-Hsp27 est dilué au 1/3000 et hybridé à 37°C pendant 1 heure.

Révélation chémiluminescente (ECL): l'anticorps secondaire conjugué à la péroxidase est dilué au 1/20000 (Amersham) et hybridé à 37°C pendant 45 minutes. Le substrat chémiluminescent ECL (PIERCE) est appliqué sur la membrane pendant 1 minute. Une autoradiographie de la membrane est réalisée avec un temps d'exposition de 10 minutes, puis scannée en densité optique sur Expression 10000XL Pro (Epson) (Figure 1).

Révélation fluorescente (FLUO): l'anticorps secondaire couplé à un fluorochrome (LI-COR) est dilué au 1/10000 et hybridé à 37°C pendant 45 minutes. L'émission de fluorescence est détectée dans l'infrarouge par le scanner Odyssey (LI-COR) à 800 nm (Figure 1).

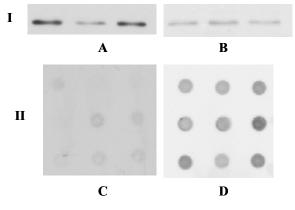
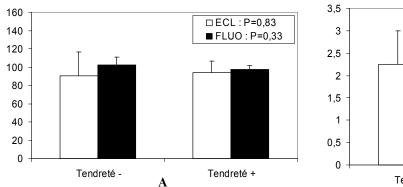


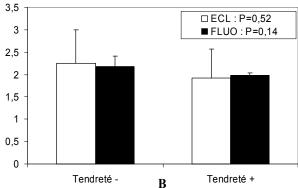
Figure 1: Western Blot (I) et Dot Blot (II) couplés à une révélation ECL (A et C) et FLUO (B et D).

Quantification: le logiciel ImageQuant (Amersham) est utilisé pour quantifier les Western et Dot Blot. Pour les Westerns, l'intensité des bandes des échantillons est normalisée par rapport à l'intensité du mélange de référence. Les moyennes et coefficients de variation sont ensuite calculés pour chaque individu. Les mêmes opérations sont effectuées pour les groupes de tendreté identique, pour lesquels les moyennes sont calculées à partir des moyennes des individus composant ce groupe. Pour les Dot Blot, la valeur d'un spot est normalisée par rapport à la somme de tous les spots du Dot Blot. Chaque individu est moyenné sur les 6 spots d'un Dot Blot. L'écart-type et le coefficient de variation sont calculés de la même manière que pour les Western Blot, pour les individus et les groupes de tendreté. La significativité de la différence entre groupes est évaluée par T-test.

#### Résultats et discussion

#### Comparaison ECL / FLUO





**Figure 2 :** Comparaison des deux groupes de 4 animaux tendreté différente par Western Blot (A) et Dot Blot (B) utilisant soit une révélation chémiluminescente, soit par fluorescence.

Les résultats obtenus par une révélation fluorescente montrent une variabilité technique moyenne réduite d'un facteur 3 à 5 par rapport à une révélation chémiluminescente (respectivement 6,3 vs 21,4% pour les Westerns et 6,4 vs 33,4% pour les Dots). Cette différence de variabilité technique est certainement due au fait que la révélation chémiluminescente est une méthode plus indirecte que la révélation fluorescente. Cette diminution de variation avec le système Odyssey permet d'obtenir des résultats plus précis. Dans le cadre de la validation de marqueurs, les différences entre groupes pourront être plus précisément déterminées. Ceci est illustré par la diminution des P-value entre ECL et FLUO (Figure 2). La révélation par fluorescence apparaît donc mieux adaptée.

#### Comparaison Western Blot / Dot Blot en fluorescence

Les résultats obtenus par des Western Blot et Dot Blot, ont montré des variations techniques comparables (Figure 2) entre les groupes de 4 animaux de tendreté différente (6,4% pour les Western contre 6,3% pour les Dot en fluorescence). Les deux techniques sont donc aussi fiables l'une que l'autre.

Cependant, chaque individu étant déposé 6 fois sur un Dot Blot contre 1 fois sur un Western Blot, les Dots Blots ont permis d'obtenir une quantité de données 6 fois plus importante lors d'une même expérience que les Westerns Blots. Les Dots Blots constituent donc une méthode de choix pour la validation de marqueurs de tendreté pour notre étude.

#### Conclusion

Cette étude a permis de montrer qu'une révélation par fluorescence est beaucoup plus fiable qu'une révélation chémiluminescente pour la validation de marqueurs de la tendreté de la viande. De plus, ce genre d'analyse est beaucoup plus rapide avec des Dot Blots qu'avec des Westerns Blots, tout en étant aussi fiable. Le gain de fiabilité apporté par une révélation fluorescente permettrait de réduire le nombre de répétitions pour un même échantillon sur un Dot Blot, grâce à quoi un nombre plus important d'individus différents pourraient être déposé sur une même membrane de Dot Blot. La normalisation par rapport à l'intensité totale des spots du Dot Blot n'en sera que meilleure pour une comparaison inter-Dots. La méthode retenue pour la validation de marqueurs de la tendreté de la viande bovine est l'analyse par Dot Blot et une révélation par fluorescence. Cette méthodologie sera appliquée sur différents types de muscles, d'animaux et de races pour une liste d'une trentaine de marqueurs potentiels de la tendreté à valider.

#### Références bibliographiques

Bouley, J., Chambon, C., Picard, B., 2004. Proteomics. 4 (6), 1811-1824.

#### Remerciements

Les auteurs remercient C. Barboiron pour son assistance technique, D. Taillandier pour son assistance sur l'Odyssey, l'UE de Bourge et l'abattoir de Theix. Le projet MUGENE a été financé par l'ANR et APIS-GENE.

# MUGENE : APPROCHE COMBINEE DE GENETIQUE, DE GENOMIQUE ET DE BIOLOGIE MUSCULAIRE POUR PREDIRE LA QUALITE DE LA VIANDE BOVINE

HOCQUETTE J-F.<sup>1</sup>, LAVILLE E.<sup>2</sup>, BERNARD C.<sup>3</sup>, PICARD B.<sup>1</sup>, CASSAR-MALEK I.<sup>1</sup>, SAYD T.<sup>2</sup>, LEPETIT J.<sup>2</sup>, JURIE C.<sup>1</sup>, MEUNIER B.<sup>1</sup>, MICOL D.<sup>1</sup>, LEVEZIEL H.<sup>4</sup>, RENAND G.<sup>5</sup>

<sup>1</sup> INRA, UR1213, Unité de Recherches sur les Herbivores, <sup>2</sup> INRA, UR370, Unité Qualité des Produits Animaux, Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle, <sup>3</sup> Institut de l'Élevage, Service Aptitudes et Sélection des Races Allaitantes, 149 rue de Bercy, 75975 Paris Cedex 12, <sup>4</sup> INRA-Université de Limoges, UMR1061, Unité de Génétique Moléculaire Animale, 123 Avenue Albert Thomas, 87060 Limoges, <sup>5</sup> INRA, UR337, Station de Génétique Quantitative Appliquée, 78352 Jouy-en-Josas cedex.

#### Introduction

Afin de favoriser la production de viande bovine de qualité, les objectifs du projet MUGENE (les GENEs du MUscle) sont (i) de déterminer le profil d'expression des gènes et des protéines associé à la production d'une viande de bonne qualité en fonction du potentiel de croissance musculaire des animaux et des facteurs d'élevage, et (ii) de découvrir de nouveaux marqueurs moléculaires ou des gènes polymorphes qui contrôlent la qualité de la viande. Le programme MUGENE s'inscrit donc dans une démarche intégrative du gène à la qualité de la viande en passant par le tissu musculaire et l'animal entier (Hocquette et al., 2006).

#### Matériel et Méthodes

Ce projet s'appuie sur une expérimentation conduite par la Station de Génétique Quantitative et Appliquée (SGQA) en race Charolaise dans laquelle les descendants mâles sont engraissés selon deux systèmes de production différents (jeunes taurillons vs bœufs). Ce dispositif comporte un nombre réduit de familles divergentes sur leur potentiel de croissance musculaire. L'étude porte sur un effectif d'environ 110 animaux (taurillons abattus à l'âge de 15 ou 19 mois ou bœufs abattus à l'âge de 30 mois). Le protocole a été présenté en détails par Hocquette et al. (2006).

Les analyses du transcriptome (muscles prélevés à l'abattage) et du protéome (muscles prélevés à l'abattage [J0] puis après 5 jours [J5] et 21 jours [J21] de maturation) ont été réalisées sur les échantillons des animaux qui divergent par leur potentiel de croissance musculaire ou par la vitesse de maturation, la force de cisaillement et l'analyse sensorielle de leur viande pour découvrir de nouveaux marqueurs moléculaires associés à ces critères.

Les analyses du transcriptome des muscles *Longissimus thoracis* (LT) et *Semitendinosus* (ST) ont été réalisées avec des MyoChips de la plate-forme Génopole Ouest (INSERM U533, Nantes). Les données ont été normalisées grâce à l'outil MADSCAN et les gènes différentiellement exprimés ont été mis en évidence par la méthode SAM ("Significance Analysis of Microarrays"). Des validations des différentiels d'expression ont été réalisées par RT-PCR en temps réel.

Pour l'analyse du protéome, des échantillons de muscle LT ont été classés sur la base des données de tendreté estimée par mesure mécanique (force de cisaillement Warner-Bratzler sur des échantillons cuits au grill). Huit taurillons ayant produit les viandes les plus tendres (n=4) ou les plus dures (n=4) ont été retenus. Pour les muscles prélevés à l'abattage, les protéines ont été extraites et séparées par électrophorèse bidimensionnelle à raison de trois gels par animal.

Les analyses protéomiques ont été poursuivies au cours de la maturation (J0, J5 et J21). Afin d'augmenter la sensibilité de détection, les protéines sarcoplasmiques ont été séparées des protéines myofibrillaires sur la base de leur différence de solubilité. Ces deux fractions ont été analysées indépendamment par électrophorèse bidimensionnelle.

Dans tous les cas, l'analyse des spots a été réalisée par classification hiérarchique (Permutmatrix) et analyse statistique (ANOVA notamment). Les protéines d'intérêt ont été identifiées par spectrométrie de masse (Maldi-Tof) sur la Plateforme "Exploration du Métabolisme : des gènes aux métabolites" (atelier Protéome) de l'INRA de Clermont-Theix.

#### Résultats

L'analyse du transcriptome du muscle LT de 25 taurillons Charolais a permis de mettre en évidence 58 gènes différentiellement exprimés à la fois selon la tendreté, la jutosité et la flaveur de la viande. Parmi ces gènes, plusieurs apparaissent corrélés à la jutosité et à la flaveur des viandes tel que le gène PRKAG1, d'autres sont plutôt liés à la tendreté, en particulier le gène DNAJA1 (Bernard et al. 2007). L'expression de ce gène présente une forte corrélation négative avec la tendreté, expliquant à elle seule jusqu'à 43% de sa variabilité. Cette relation a été confirmée avec des muscles de 23 bœufs (Bernard et al. 2008). Ces résultats ont donné lieu à un dépôt de brevet (Bernard et al. 2006).

La sélection génétique en faveur du potentiel de croissance semble plutôt associée à des modifications de l'expression des gènes impliqués dans les voies métaboliques contrôlant l'hypertrophie musculaire et le métabolisme énergétique (glycolyse et cycle de Krebs). De plus, l'expression différentielle de certains gènes semble être associée au développement de la masse musculaire indépendamment du dépôt de gras. Cependant, aucun de ces gènes n'est relié aux qualités sensorielles suggérant que la sélection génétique en faveur du potentiel de croissance ne modifie pas ou peu la qualité de la viande.

Les analyses transcriptomiques réalisées à partir d'échantillons du muscle ST mettent en évidence un grand nombre de gènes différentiellement exprimés entre les groupes extrêmes selon la dureté de la viande et le potentiel de croissance de ces mêmes animaux. Les analyses de corrélations sont actuellement en cours. Parmi ces gènes, 120 présentent des profils d'expression semblables à ceux observés pour le muscle LT, 61 étant associés à la tendreté et 59 au potentiel de croissance. Si les deux muscles de l'étude présentent des caractéristiques métaboliques différentes, plusieurs gènes associés à la tendreté de la viande et au potentiel de croissance ont des profils d'expression similaires.

L'analyse du protéome du muscle LT à l'abattage a montré que les protéines les plus exprimées dans le lot de tendreté inférieure correspondent à des protéines caractéristiques du type rapide glycolytique (par exemple une isoforme de Troponine T rapide, la phosphoglucomutase à 15 mois et des isoformes rapides de chaînes lourdes de myosine, et enfin la glycogène phosphatase, à 19 mois). Au contraire, les protéines les plus exprimées dans le lot de tendreté supérieure correspondent principalement au type lent oxydatif (par exemple apoBEC, apolipoprotéine, isoforme lente de chaîne lourde de myosine, ubiquinol-cytochrome-c réductase à 15 mois et chaîne béta de l'ATP synthase à 19 mois). La protéine HSP 27 ("Heat Shock" Protéine impliquée dans les phénomènes d'apoptose) est plus exprimée dans le lot de tendreté inférieure aux deux âges. Ceci confirme le rôle important de cette protéine dans la tendreté mis en évidence dans d'autres études. De plus, trois protéines montrent une corrélation avec la tendreté estimée à la fois par analyse sensorielle et mesure mécanique. Ces résultats sont en cours de validation par la technique de western-blot afin de vérifier les différences entre lots et de confirmer l'utilisation de ces protéines comme marqueurs de tendreté. Ces études sont également en cours sur le muscle ST des mêmes animaux.

Dans le cadre des études de protéomique au cours de la maturation, l'analyse par classification hiérarchique a permis le classement des gels en fonction des temps post mortem. L'analyse a permis de distinguer des groupes de spots évoluant de façon corrélée au cours des trois temps post mortem (clusters 1, 2 et 3). Le cluster 1 regroupe des spots absents au temps J0 et présents aux temps J5 et J21. Ce sont des protéines entières appartenant initialement (J0) à la fraction soluble dont les augmentations d'intensité à J5 et J21 s'observent principalement dans la fraction non soluble. Ce résultat suggère une diminution de la solubilité des protéines au cours de la maturation. Le cluster 2 est constitué de spots uniquement présents au temps J21. Il s'agit de fragments protéiques issus de la protéolyse. Ces fragments sont répartis dans les deux fractions (soluble et insoluble). Les protéines du cluster 3, présentes à J0, sont absentes aux temps J5 et J21. Ce cluster est composé de onze protéines de la fraction soluble et deux protéines de la fraction non soluble. Ces diminutions d'intensité aux deux temps post mortem peuvent être dues à des phénomènes protéolytiques ou à une perte de solubilité des protéines ayant pour conséquence leur passage dans la fraction non soluble.

A J0, la comparaison des groupes produisant des viandes dures ou tendres a mis en évidence 25 spots différentiels. Les spots dont l'intensité est plus élevée dans le groupe des viandes dures correspondent principalement à des protéines du métabolisme glycolytique. Inversement, ceux dont l'intensité est plus élevée dans le groupe tendre correspondent à des protéines mitochondriales indiquant un métabolisme plus oxydatif. A J5 et J21, 22 et 14 spots respectivement ont une intensité différente en fonction de la tendreté. Ces différences s'observent surtout dans la fraction non soluble. Les muscles les plus tendres contiennent davantage de fragments protéiques de l'HSP27 et davantage d'une isoforme de l'HSP27 entière.

#### Conclusion

Le projet MUGENE a permis d'identifier des gènes et des protéines associés aux caractéristiques musculaires et à la qualité de la viande, en particulier à sa tendreté. Toutefois, toutes les données de transcriptomique et de protéomique n'ont pas encore été dépouillées. A terme, l'ensemble de ces marqueurs de tendreté pourra être analysé simultanément par la technologie des puces à ADN (projet GENOTEND en cours) ou des puces à protéines (à l'aide d'anticorps spécifiques). Par ailleurs, les polymorphismes présents dans ces gènes sont en cours d'étude et leur impact sur la qualité de la viande pourra être étudié dans le cadre du dispositif QUALVIGENE.

#### Références bibliographiques

Bernard C., Cassar-Malek I., Hocquette J.F. 2006. Genomic marker for meat tenderness. Patent 06 300943.5. 12/09/06. Bernard C., Cassar-Malek I., Le Cunff M., Dubroeucq H., Renand G., Hocquette J.F. 2007. New indicators of beef sensory quality revealed by expression of specific genes. J Agric Food Chem, 55: 5229-5237.

Bernard C., Cassar-Malek I., Gentes G., Delavaud A., Dunoyer N., Micol D., Renand G., Hocquette J.F. 2008. Qualités sensorielles de la viande bovine : Identification de marqueurs génomiques. Viandes Prod. Carnés Vol 26, sous presse. Hocquette J.F., Morzel M., Levéziel H., Renand G., 2006. Mugène : approche intégrée combinant la génétique, la génomique et la biologie musculaire pour prédire la qualité de la viande bovine selon le potentiel de croissance des animaux et les facteurs d'élevage. Viande et Produits Carnés, Hors série, 125-126.

#### Remerciements

L'expérimentation a été réalisée avec des animaux élevés et sélectionnés dans l'Unité expérimentale du Département de Génétique Animale à Bourges. Cette étude a bénéficié d'un soutien financier de l'ANR et d'APIS-GENE ainsi que du Commissariat à l'Aménagement et au développement économique du Massif central. Les auteurs remercient C Barboiron et C Chambon pour les analyses protéomiques ainsi que l'ensemble du personnel des installations expérimentales de Bourges, de l'abattoir de Theix et des laboratoires INRA (Theix, Jouy-en-Josas, Limoges) et INSERM (Nantes) concernés.

Conférences invitées Bases Biologiques de la Qualité

## LA TRAÇABILITE ANALYTIQUE DES PRODUITS CARNES

#### ENGEL E., RATEL J.

# INRA, UR 370 Qualité des Produits Animaux, 63122 Saint-Genès-Champanelle, France e-mail : erwan.engel@clermont.inra.fr

#### Une réponse à une demande sociétale croissante de garanties sur la qualité

Les consommateurs sont de plus en plus demandeurs de garanties relatives à la qualité et à la sécurité sanitaire des produits alimentaires, notamment lorsqu'ils sont d'origine animale. En ce qui concerne les produits carnés, ce besoin croissant est notamment la conséquence des crises sanitaires qui ont frappé les filières, et de pratiques de gestion des risques parfois inappropriées (Van Rijswijk et al., 2008). Conscients du lien étroit entre la qualité d'un produit animal, et ses conditions d'élaboration, les consommateurs sont de plus en plus demandeurs de garanties concernant l'historique de production des aliments. La directive européenne (CE n°178/2002) imposant la traçabilité des informations documentaires relatives aux chaînes de production agroalimentaires constitue un premier pas. Toutefois, les documents sont falsifiables et il est indispensable de développer en complément des moyens robustes pour authentifier à partir d'une analyse du produit les informations clés véhiculées par cette traçabilité papier.

Au centre d'un certain nombre de crises récentes, les produits carnés s'imposent comme des objets de recherche privilégiés et certaines questions relatives à leurs modes d'élaboration méritent d'être traitées en priorité compte tenu de leurs fortes répercussions sur la qualité. Il s'agit de leur origine spécifique, de leur provenance géographique, de la nature de l'alimentation des animaux dont ils sont issus ou de leur mode de transformation. Les modes d'élaboration influent sur la qualité des produits carnés en modifiant leur composition et/ou leur structure. Le développement de moyens analytiques robustes permettant de caractériser ces éléments changeants permettra à terme d'authentifier de manière fiable l'historique du produit carné.

Nous présentons dans cet article les principaux moyens mis en œuvre afin d'authentifier l'origine spécifique des produits carnés, leur origine géographique, la nature de l'alimentation reçue par l'animal au cours de son élevage et les procédés de transformation subis par ces produits.

#### L'authentification de l'origine spécifique

L'essentiel des travaux abordés par la littérature sur le sujet concerne l'authentification de l'espèce de l'animal dont est issu le produit, qu'il soit destiné à l'alimentation humaine ou à des usages non alimentaires.

#### Les « biomarqueurs » de l'origine spécifique

Les techniques analytiques utilisées pour assurer l'authenticité de l'origine spécifique d'un produit (par exemple l'espèce de l'animal dont est issue la pièce de viande ou les espèces végétales apportées dans la ration) concernent essentiellement l'analyse du contenu du produit en protéines et en Acide Désoxyribonucléique (ADN), deux types de molécules présentes dans quasiment tous les tissus biologiques (Asensio et al., 2008). Aujourd'hui, deux techniques font référence pour garantir l'origine spécifique d'un produit carné : l'analyse immunochimique des protéines par la technique ELISA (« Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay » littéralement « dosage immunoenzymatique sur support solide ») et l'analyse de l'ADN grâce à une méthode de biologie moléculaire, la PCR (« Polymerase Chain Reaction » qui signifie « amplification en chaîne par polymérisation »). Ces deux techniques présentent des atouts en termes de spécificité, de sensibilité, de simplicité et de rapidité dans leur mise en œuvre.

#### **Les méthodes de biologie moléculaire**

**Principe**: La méthode PCR est une méthode d'amplification génique in vitro, qui permet de copier jusqu'à plusieurs milliards de fois et de façon très spécifique une séquence d'ADN ou d'ARN cible. Certaines régions particulières de l'ADN sont à la fois très spécifiques du règne animal et très variables entre les espèces. La technique PCR peut donc être utilisée pour détecter la présence d'une séquence de nucléotides spécifique d'une espèce animale d'intérêt dans un échantillon complexe où son ADN est en mélange avec celui d'autres espèces.

*Exemple d'application*: Les techniques de PCR ont été largement utilisées ces dernières années pour authentifier l'espèce animale à l'origine de produits carnés (Pascoal et al., 2004). Récemment, Dalmasso et al. (2004) ont développé une méthode analytique basée sur la PCR qui permet d'identifier dans les aliments la plupart des espèces animales (ruminants, porcs et poulets) avec une limite de détection de 0.002%. Des méthodes basées sur la PCR ont également été développées afin de détecter la présence de gélatine bovine dans des

gélatines de porc ou de poulet avec un seuil de détection de 0.001% (Tasara et al., 2005) ou encore de résidus de tissu nerveux central de ruminants dans les produits carnés à des concentrations de 0.01% (Abdulmawjood et al., 2005).

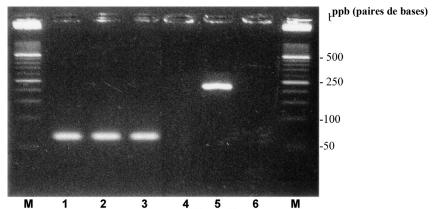


Figure 1. Authentification de l'origine spécifique des produits carnés par la technique de biologie moléculaire PCR : détection de la présence de résidus tissulaires du système nerveux central de ruminants dans les produits carnés. Résultats positifs, correspondant à la détection des ADN complémentaires cibles recherchés, lors de l'analyse de tissus du système nerveux central de bovins (ligne 1), d'ovins (ligne 2) et de caprins (ligne 3) mais résultats négatifs dans le cas de tissus du système nerveux central de porc (ligne 4). Les lignes 5, 6 et M sont des échantillons de contrôle ou des marqueurs.

Source: Abdulmawjood et al. (2005)

#### **❖** Les méthodes d'immunochimie

**Principe**: La méthode ELISA est une technique immunochimique. Elle exploite la faculté de certaines protéines utilisées par le système immunitaire, les anticorps, à détecter certaines protéines, les antigènes, de manière spécifique. La technique utilise deux anticorps: l'un est spécifique de l'antigène et va donc venir s'y fixer, tandis que l'autre réagit aux complexes antigène-anticorps formés et est couplé à une enzyme qui, en catalysant une réaction biochimique, va émettre un signal. L'intensité de ce signal révèlera la quantité de complexes anticorpsantigène et donc de l'antigène recherché.

**Exemple d'application :** Les méthodes ELISA ont été utilisées ces dernières années pour identifier les origines spécifiques de divers produits carnés. Martin et al. (1998) ont ainsi réussi à détecter et à quantifier l'ajout frauduleux de viande de porc dans une viande hachée de bœuf. Plus récemment, la technique ELISA a été adaptée pour détecter du muscle de porc à des teneurs comprises entre 0.5 et 0.05% (w/w) dans diverses viandes et préparations (Liu et al., 2006).

**Tableau.** Authentification de l'origine spécifique des produits carnés par la technique immunologique Elisa : détection de la présence de porc dans des viandes hachées de poulet et de bœuf. Résultats de la mesure de l'intensité du signal émis par la réaction enzymatique (absorbance à 415 nm) en réponse à la détection des complexes spécifiques antigène-anticorps. *Source* : Liu et al. (2006)

Niveau	Porc dans une viande de poulet hachée			Porc dans une viande de boeuf hachée		
d'adultération	crue	cuite	autoclavée	crue	cuite	autoclavée
		0.109		0.299		
0%	0.152 (0.001)	(0.001)	0.118 (0.001)	(0.004)	0.154 (0.004)	0.163 (0.001)
	0.569	0.138		0.32	0.161	
0.05%	(0.025)**	(0.007)**	0.227 (0.006)**	(0.008)**	(0.002)*	0.166 (0.004)
				0.325	0.166	
0.1%	0.971 (0.002)	0.191 (0.01)	0.417 (0.02)	(0.013)	(0.002)**	0.168 (0.001)**
		0.786		0.436		
0.5%	1.952 (0.051)	(0.041)	1.479 (0.054)	(0.017)	0.186 (0.003)	0.187 (0.008)
		1.354				
1%	2.078 (0.032)	(0.022)	1.792 (0.042)	0.604 (0.03)	0.221 (0.008)	0.216 (0.01)
		1.761		1.009		
2%	2.198 (0.045)	(0.045)	1.938 (0.054)	(0.052)	0.356 (0.021)	0.315 (0.013)
		1.976		1.728		
4%	2.221 (0.031)	(0.033)	2.044 (0.018)	(0.098)	0.802 (0.034)	0.624 (0.032)

<sup>\*\*</sup>P < 0.01; \*0.01 < P < 0.05

### L'authentification de la provenance géographique

Les principales recherches dans ce domaine concernent la provenance géographique des matières premières et donc l'authentification de la zone de production des animaux.

### **Les** « biomarqueurs » de la provenance géographique

Les méthodes analytiques les plus couramment utilisées pour assurer l'identification de la provenance d'un produit carné consistent à étudier spécifiquement certains éléments de la composition du produit (Franke et al., 2005; Luykx et van Ruth, 2008).

1/ les isotopes stables d'atomes ciblés : les atomes, quels qu'ils soient, sont présents dans le milieu sous différentes formes se distinguant chacune par un nombre spécifique de neutrons, chaque forme s'appelle isotope. Par exemple les Carbone 13 ou 14 (<sup>13</sup>C ou <sup>14</sup>C), isotopes du carbone, sont bien connus du grand public. On appelle ratio isotopique d'un atome dans un produit carné la proportion mesurée entre les deux formes isotopiques les plus courantes de cet atome parmi l'ensemble de ces constituants. Une grande partie des ratios isotopiques de divers atomes ne varient pas aléatoirement dans l'espace mais selon des schémas biens définis (cycles chimiques des plantes, pluviométrie, proximité des masses océaniques...) : ils peuvent donc constituer de bons traceurs de la provenance géographique. Par exemple, la valeur du ratio <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C dépend de la proportion des végétaux ayant une activité photosynthétique de type C4 (le maïs notamment) dans la ration fournie aux animaux

2/ les constituants présents à l'état de « traces » dans l'environnement de production. De la même manière que les isotopes, ils sont transférés au produit tout au long de sa chaîne d'élaboration. Il peut s'agir de constituants du sol, de l'air, de l'eau ou des aliments consommés par les animaux.

3/ la flore microbienne du produit. L'environnement a un effet sur le profil microbien global de ce produit. Selon la provenance du produit, les bactéries détectées peuvent en effet différer par leur quantité, mais également par le type d'espèces et de souches présentes caractérisables par exemple par leur résistance à certains antibiotiques. La mesure de ratios isotopiques est à l'heure actuelle la méthode privilégiée pour identifier la provenance d'un

produit carné, en raison notamment de la quasi impossibilité à falsifier le diagnostic.

# **Les méthodes de dosage isotopique**

**Principe**: Les ratios d'isotopes stables sont le plus fréquemment mesurés au moyen d'une technique de spectrométrie de masse : la SMRI (Spectrométrie de Masse à Ratio Isotopique). La spectrométrie de masse à ratio isotopique permet de distinguer des composés dont la structure chimique est identique (et qui ont donc des spectres de fragmentation identique), mais dont le contenu en isotopes stables est différent. Cette technique permet de déterminer les ratios des isotopes stables du carbone (\frac{13}{C}/\frac{12}{C}), de l'azote (\frac{15}{N}/\frac{14}{N}), de l'oxygène (\frac{18}{O}/\frac{16}{O}), de l'hydrogène (\frac{2}{H}/\frac{1}{H}) et du soufre (\frac{34}{S}/\frac{32}{S}), qui constituent tout matériel biologique. Pour cela, le produit est chauffé à température élevée pour transformer, généralement par combustion ou pyrolyse, l'ensemble de ces constituants en gaz purifiés par chromatographie en phase gazeuse avant injection dans le spectromètre de masse à ratio isotopique. Au lieu du produit entier, la méthode peut être appliquée à certains constituants ciblés préalablement extraits du produit.

Exemple d'application: Boner et Förstel (2004) ont ainsi pu différentier, à partir de l'analyse des ratios isotopiques de l'oxygène et de l'hydrogène, des échantillons de bœufs provenant de différents pays de production (Argentine et Allemagne) et, à partir des ratios isotopiques de l'azote et du soufre, des échantillons provenant de fermes installées sur une zone géographique plus restreinte en Allemagne. Plus récemment, des viandes de poulet et de bœuf provenant de divers pays (poulet : Brésil, France, Allemagne, Hongrie et Suisse ; bœuf : Australie, Autriche, Canada, Etats-Unis, Suisse) ont pu être discriminées (p<0.001) selon leur provenance grâce à la mesure de la composition de l'eau des échantillons en  $\delta^{18}$ O (Franke et al., 2008).

# L'authentification des modes de production

Du fait de ses retombées nutritionnelles, sensorielles et sanitaires, l'alimentation des animaux constitue la principale question abordée par la littérature dans ce domaine. L'alimentation des ruminants est à ce titre le sujet pour lequel la réflexion est certainement la plus avancée pour les filières.

### **Les** « biomarqueurs » des modes de production

Plusieurs éléments dans la composition d'un produit carné apparaissent comme des cibles privilégiées pour identifier la nature de l'alimentation que l'animal a reçue au cours de son élevage.

1/ les isotopes stables, qui sont incorporés dans les aliments utilisés dans la production locale puis transférés dans les organismes des animaux.

2/ des constituants des aliments consommés par les animaux peu ou pas dégradés lors des évènements postingestifs. Ces composés peuvent être des pigments caroténoïdes, des composés terpéniques ou encore des composés phénoliques.

3/ des composés produits par le métabolisme animal et dont la teneur est fonction de la nature de l'alimentation. Il s'agit notamment d'acides gras, d'hydrocarbures, de cétones, d'aldéhydes, de lactones, de composés soufrés... Parmi les composés faisant partie de cette dernière catégorie d'éléments cibles, il existe une grande diversité de molécules «volatiles» de poids moléculaire inférieur à 300 Daltons dont la composition est extrêmement sensible aux conditions de production des animaux. Ces petites molécules sont les produits finaux, et donc des témoins privilégiés, de l'activité métabolique des tissus ou fluides animaux. Des travaux récents montrent qu'ils constituent des « bio-marqueurs » de choix pour authentifier la nature de l'alimentation des animaux d'élevage (Vasta et Priolo, 2006). La technique la plus adaptée pour l'analyse du contenu des produits carnés en composés de faible poids moléculaire, ou volatils, est sans aucun doute la CPG-SM (Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse).

### **Les méthodes chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse**

**Principe**: L'analyse détaillée de cette fraction volatile comporte deux principales étapes. Après avoir extrait et concentré les composés volatils des produits carnés, ces composés sont séparés par chromatographie en phase gazeuse (CPG), qui consiste à entraîner les molécules par un gaz vecteur au travers d'une phase stationnaire recouvrant la face interne d'un fin capillaire en silice fondue, la colonne chromatographique, ce qui permet ainsi de les séparer suivant leur poids moléculaire et leur polarité. Le temps de séjour d'un composé donné dans la colonne chromatographique fournit un premier indice pour l'identifier.

La deuxième étape consiste à identifier et quantifier chaque constituant séparé par spectrométrie de masse (SM). La spectrométrie de masse permet d'identifier et de mesurer la quantité d'un constituant. Sous l'effet d'un bombardement par des électrons à haute énergie, le constituant est en effet fragmenté en « ions » dont l'abondance est mesurée après une étape de séparation. L'identification du constituant s'effectue par analyse de l'abondance relative des différents ions que l'on nomme « spectre de masse » et qui est caractéristique de chaque constituant. L'abondance absolue du signal d'un ou de plusieurs de ces ions permet de quantifier le constituant. Des développements récents dans le domaine de la CPG-SM devraient en faire une technique incontournable pour la recherche de bio-marqueurs de la qualité. Il s'agit en particulier de la chromatographie systématique à 2 dimensions couplée à la spectrométrie de masse (CPGxCPG/SM) qui permet d'identifier une multitude de constituants volatils inaccessibles avec les techniques de CPG-SM traditionnelles (Tranchida et al., 2004 ; Sivadier et al. 2008).

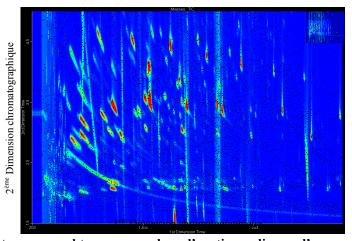


Figure 2. 2D chromatogramme obtenu par analyse d'un tissu adipeux d'agneau par chromatographie systématique à 2 dimensions couplée à la spectrométrie de masse «temps de vol» (CPGxCPG/SM TOF). La deuxième dimension chromatographique permet de démasquer les composés traceurs non séparés par la première dimension.

Source: Sivadier et al. (2008).

Exemple d'application: Il a ainsi été démontré qu'il était possible, à partir de l'analyse par CPG-SM des composés volatils de viande ou de tissus adipeux d'agneaux, d'identifier un grand nombre de traceurs distinctifs d'animaux nourris exclusivement au pâturage ou au concentré durant leur élevage (Vasta et al., 2007; Engel et Ratel, 2007). Ces traceurs appartiennent à différentes familles chimiques (acides gras, alcanes, alcools, aldéhydes, cétones, lactones, terpènes) et sont porteurs d'informations complémentaires relatives aux régimes des animaux. Dernièrement, la même équipe a montré qu'il était possible de prendre en compte les deux principales sources de biais menaçant la robustesse de ces diagnostics d'authentification: 1/ les changements

d'alimentation en cours d'élevage et 2/ les changements de la composition des tissus suite aux transformations qu'il peut subir après son prélèvement sur l'animal. Ainsi, en déterminant la vitesse à laquelle chacun de ces traceurs volatils peut apparaître ou disparaitre dans les tissus suite à un changement de régime (finition à l'herbe ou au concentré), Sivadier et al. (2008) ont pu authentifier des gras d'animaux nourris avec des régimes alternés. D'autre part, en suivant l'évolution de traceurs de l'alimentation à l'herbe dans des tissus musculaires en cours de maturation, Lehallier et al. (2008) ont montré qu'il était possible d'identifier des composés distinctifs de ce type de régime quel que soit le stade de la transformation en viande. De plus en plus utilisée pour analyser la composition des produits alimentaires, la nouvelle technique de chromatographie systématique à 2 dimensions couplée à la spectrométrie de masse devrait rapidement devenir un outil de choix pour répondre à ces questions d'authentification.

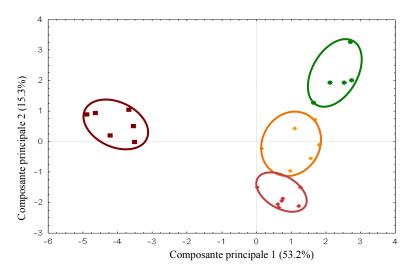


Figure 3. Authentification des modes de production des produits carnés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse : discrimination d'agneaux alimentés avec des régimes alternés au cours de leur élevage par analyse de la composition de la fraction volatile de leurs tissus adipeux. Premier plan de l'analyse en composantes principales réalisée à partir des marqueurs de l'alimentation identifiés dans deux types de tissus adipeux : discrimination nette des 4 groupes d'agneaux élevés au pâturage et finis respectivement avec 0 ( , 4 ( , ), 8 ( ) et 12 ( ) kg de concentré.

Source : Sivadier et al. (2008).

### L'authentification des procédés de transformation

Un grand nombre d'allégations portant sur les procédés de transformation subis par les produits carnés jouent un rôle important dans la commercialisation de ces produits et génèrent un surcoût à l'achat qui peut-être important. Pour le consommateur, elles participent à la qualité et à l'image qu'il se fait du produit, mais elles répondent également souvent à un problème de sécurité alimentaire. De ce point de vue, l'allégation « produit frais » est une des questions qui a les plus fortes retombées économiques et sanitaires pour la filière des produits carnés (Ballin et Lametsch, 2008).

# Les « biomarqueurs » des étapes de transformation

Les techniques utilisées pour authentifier la fraicheur des produits et vérifier qu'aucune congélation préalable n'a eu lieu sont basées essentiellement sur l'analyse des conséquences de la déstructuration tissulaire provoquée par l'étape de congélation. Plusieurs techniques sont couramment utilisées à cette fin : les techniques spectroscopiques, les techniques enzymatiques, les techniques biomoléculaires, les techniques de bio imagerie, les techniques sensorielles. Une littérature abondante s'est plus particulièrement penchée sur les techniques de bio imagerie pour observer la déformation des fibres musculaires ou l'apparition de microcristaux de glace en réponse à cette congélation.

# Les méthodes de bio imagerie microscopique et leur application

Il a en effet été largement établi dans la littérature que la congélation provoquait une déformation de la structure du produit carné ainsi que la formation de microcristaux de glace plus ou moins gros en fonction de la vitesse du refroidissement (Ballin et Lametsch, 2008). Les techniques de bio imagerie microscopique utilisent un outil d'optique qui permet d'accéder à l'échelle de la cellule animale et donc de visualiser nettement la microstructure d'un produit carné. Plusieurs auteurs ont ainsi développé des techniques de microscopie qui ont permis

d'authentifier la fraicheur d'une viande de porc ou le procédé utilisé pour réaliser l'étape de congélation de la viande (Molina-Garcia et al., 2004 ; Zhu et al., 2004).

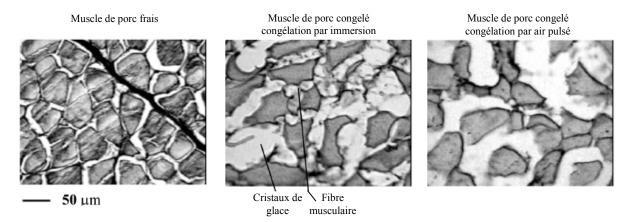


Figure 4. Authentification d'une viande de porc congelée par imagerie microscopique : déformation de la structure des fibres musculaires et apparition de microcristaux de glace sous l'effet de la congélation. *Source* : Zhu et al. (2004).

### Conclusion

L'augmentation de la littérature scientifique internationale dédiée à l'authentification des aliments reflète probablement l'intérêt croissant que suscitent ces développements analytiques pour pouvoir à la fois garantir de manière objective la transparence des pratiques d'élaboration et en même temps légitimer et protéger les signes distinctifs de qualité dans un contexte de segmentation croissante des marchés. Les retombées attendues sont nombreuses, tant au niveau des consommateurs, à travers la confiance qu'ils accordent à la qualité et à la sécurité annoncées des produits carnés, qu'aux niveaux des producteurs et des institutions qui bénéficieront de moyens objectifs de revendiquer la qualité de leur produits.

Aujourd'hui, il s'agit pour les chercheurs de proposer des méthodes robustes et infalsifiables, utilisables à des fins réglementaires. La solution la plus prometteuse consiste sans aucun doute à identifier au moyen de méthodes sensibles et résolutives des bio-marqueurs pertinents et incontestables des questions ciblées par cette revue bibliographique. Dans cette optique, et afin de fédérer les compétences et les moyens disponibles au niveau national, un réseau « Authentification-Traçabilité » (AUTRAC)\* créé à l'initiative du département « Caractérisation et Elaboration des Produits Issus de l'Agriculture » de l'INRA réunit des chercheurs du domaine issus de la plupart de nos organismes de recherche. Du point de vue des filières et des institutions, il s'agit de faire évoluer les réglementations afin de bénéficier rapidement de ces avancées pour pouvoir garantir aux consommateurs la qualité des produits carnés et le cas échéant leur caractère distinctif.

\* http://www.inra.fr/inra\_cepia/vous\_recherchez/nos\_activites/tracabilite

### Références bibliographiques

Abdulmawjood A., Schönenbrücher H., Bülte M. 2005. Novel Molecular Method for Detection of Bovine-Specific Central Nervous System Tissues as Bovine Spongiform Encephalopathy Risk Material in Meat and Meat Products, *Journal of Molecular Diagnostics*, 7: 368-374.

Asensio L., Gonzalez I., Garcia T., Martin R. 2008. Review: Determination of food authenticity by enzymelinked immunosorbent assay (ELISA), *Food Control*, **19**:1-8.

Ballin N.Z., Lametsch R. 2008. Analytical methods for authentication of fresh vs. thawed meat – A review, *Meat Science*, doi:10.1016/j.meatsci.2007.12.024.

Boner M., Forstel H. 2004. Stable isotope variation as a tool to trace the authenticity of beef. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **378**: 301-310.

Dalmasso A., Fontanella E., Piatti P., Civera T., Rosati S., Bottero M.T. 2004. A multiplex PCR assay for the identification of animal species in feedstuffs, *Molecular and Cellular Probes*, **18**:81-87.

Engel E., Ratel J. 2007. Correction of the data generated by mass spectrometry analyses of biological tissues: Application to food authentication. *Journal of Chromatography A*, **1154**:331-341.

Franke B.M., Gremaud G., Hadorn R., Kreuzer M. 2005. Geographic origin of meat - elements of an analytical approach to its authentication. *European Food Research and technology*, **221**: 493-503.

Franke B.M., Koslitz S., Micaux F., Piantini U., Maury V., Pfammatter E., Wunderli S., Gremaud G., Bosset J.O., Hadorn R., Kreuzer M. 2008. Tracing the geographic origin of poultry meat and dried beef with oxygen and strontium isotope ratios, *European Food Research and Technology*, **226**: 761-769.

Lehallier B., Ratel J., Bakkali A., Bouvier F., François D., Engel E. 2008. Combination of chemometric advances for discriminating biological samples based on their GC-MS analysis, Application to food authentication. *11th Conference on Chemometrics in Analytical Chemistry (CAC)*, Montpellier, France (proceeding).

Liu L.H., Chen F.C., Dorsey J.L., Hsieh Y.H.P. 2006. Sensitive monoclonal antibody-based sandwich ELISA for the detection of porcine skeletal muscle in meat and feed products, *Journal of Food Science*, **71**:M1 -M6.

Luykx D.M.A.M., van Ruth S.M. 2008. An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products. *Food Chemistry*, **107**:897-911.

Martin D.R., Chan J., Chiu J.Y. 1998. Quantitative evaluation of pork adulteration in raw ground beef by radial immunodiffusion and enzyme-linked immunosorbent assay, *Journal of Food Protection*, **61**:1686-1690.

Molina-García A.D., Otero L., Martino M.N., Zaritzky N.E., Arabas J., Szczepek J., Sanz P.D. 2004. Ice VI freezing of meat: supercooling and ultrastructural studies, *Meat Science*, 66: 709-718.

Pascoal A., Prado M., Castro J., Cepeda A., Barros-Velázquez J. 2004. Survey of authenticity of meat species in food products subjected to different technological processes, by means of PCR-RFLP analysis, *European Food Research and Technology*, **218**:306-312.

Sivadier G., Ratel J., Engel E. 2008. Authentication of the type of feeding given to farm animals by GC-MS analysis of their fat tissues. *32nd International Symposium on Capillary Chromatography (ISCC)*, Riva, Italy (proceeding).

Tasara T., Schumacher S., Stephan R. 2005. Conventional and real-time PCR-based approaches for molecular detection and quantitation of bovine species material in edible gelatine. *Journal of Food Protection*, **68**:2420-2426.

Tranchida P.Q., Dugo P., Dugo G., Mondello L. 2004. Comprehensive two-dimensional chromatography in food analysis, *Journal of Chromatography A*, **1054**:3-16.

Van Rijswijk W., Frewer L.J., Menozzi D., Faioli G. 2008. Consumer perceptions of traceability: A cross-national comparison of the associated benefits, *Food Quality and Preference*, **19**: 452-464.

Vasta V., Priolo A. 2006. Ruminant fat volatiles as affected by diet. A review. Meat Science, 73:218-228.

Vasta V., Ratel J., Engel E. 2007. Mass spectrometry analysis of volatile compounds in raw meat for the authentication of the feeding background of farm animals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**:4630-4639.

Zhu S., Le Bail A., Ramaswamy H.S., Chapleau N. 2004. Characterization of Ice Crystals in Pork Muscle Formed by Pressure-shift Freezing as Compared with Classical Freezing Methods, *Journal of Food Science*, **69**:FEP190-FEP197.

# DETERMINISME BIOLOGIQUE DE LA QUALITE DES POISSONS

## LEFEVRE F., BUGEON J.

# INRA, UR1037, SCRIBE, IFR 140, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex France

### Introduction

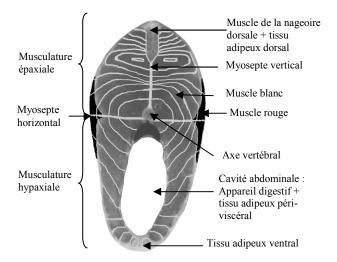
Le terme de "qualité", qu'il s'agisse de poisson ou de tout autre produit, intègre de nombreuses caractéristiques, dont l'étude relève de domaine de compétences très variées, et dont le déterminisme recouvre tous les paramètres de la production, de la transformation et de l'acheminement jusqu'au consommateur. Les qualités concernent des aspects sanitaires, technologiques, nutritionnelles et organoleptiques. La qualité sanitaire revêt l'absence de parasites, de polluants, de biomolécules toxiques ou de microorganismes pathogènes pour l'homme. C'est la qualité première qui conditionne la consommation. Elle est déterminée par l'environnement de vie des poissons, la qualité de l'aliment ou de la chaîne alimentaire, et le respect de règles sanitaires lors de la transformation et sur l'ensemble de la chaîne de distribution. Les qualités technologiques des carcasses sont déterminées par la morphologie des animaux, la répartition des tissus et leur composition. La qualité nutritionnelle est quant à elle directement associée à la composition de la chair en macro- et en micronutriments. Pour finir, les qualités organoleptiques rassemblent l'ensemble des perceptions sensorielles que l'on peut avoir du produit, et peuvent être décomposées en des caractéristiques d'aspect ou de couleur, de flaveur, et de texture du produit. Les déterminants de ces trois types de perceptions peuvent être, ou non, de nature biologique.

L'objectif de cette synthèse est de passer en revue les déterminismes, d'origine biologique, des qualités technologiques, nutritionnelles et organoleptiques des poissons. Nous examinerons également l'impact de quelques leviers d'action, qui en modifiant les déterminants de la qualité, peuvent affecter les caractéristiques des produits et permettre ainsi d'envisager une maîtrise de la qualité des poissons en élevage.

### Qualités technologiques des carcasses

De nombreuses espèces de poissons sont vendues après plusieurs étapes successives de découpe : l'éviscération, le filetage/parage/pelage et éventuellement le tranchage en darnes ou en pavés. Minimiser les pertes à chacune de ces étapes est un enjeu important, sachant par exemple que la valeur du filet est trois fois plus importante que celle du poisson entier. La connaissance du déterminisme de ces rendements est donc essentielle afin d'envisager leur maîtrise. Une illustration de l'organisation globale des poissons ronds est présentée dans la Figure 1.

Figure 1 : Schéma d'une darne de truite permettant de visualiser l'organisation macroscopique des tissus musculaires, conjonctif, et adipeux.



### Eviscération

La première étape de découpe (sauf pour les petits poissons vendus entiers) est l'éviscération qui consiste à éliminer les organes internes (tube digestif, foie, rate, cœur....) et les tissus adipeux périviscéraux. Il s'agit d'une étape importante pour la bonne conservation du produit, les risques d'autolyse des parois musculaires par les enzymes digestives, et de contamination de la chair par la flore fécale étant importants. Le rendement à l'éviscération appelé aussi rendement carcasse (poids carcasse/poids vif) est très variable entre espèces et corrélé négativement avec le rendement en viscères. La proportion de viscères peut aller jusqu'à plus de 20% chez une espèce comme la morue et la truite arc-en-ciel ou être inférieure à 10% chez une espèce comme le saumon Atlantique ou le flétan. Ces différences sont notamment liées au mode de dépôt de lipides de ces espèces. Ainsi si la morue dépose essentiellement des lipides dans le foie (jusqu'à 12% du poids vif de l'animal), la truite arc-en-ciel va les déposer dans le tissu adipeux périviscéral et dans une moindre

mesure le muscle, ces deux espèces vont donc présenter des pertes importantes au moment de l'éviscération. Le saumon Atlantique dépose lui une grande quantité de lipides dans le muscle et moins dans le foie et les viscères, il présente donc moins de pertes à l'éviscération. Pour une même espèce comme la truite arc-en-ciel la proportion de viscères est assez variable (coefficient de variation de 15%) (Kause et al., 2007). La variabilité de la proportion de viscères est liée à celle du développement des tissus adipeux périviscéraux comme cela a été montré chez la bar (Haffray et al., 2007). Ce tissu présente une allométrie de croissance positive par rapport au poids vif chez la truite arc-en-ciel immature (Weatherley and Gill 1983). Ce sont toutefois des tissus de réserves qui peuvent être utilisés lors de période de jeûne (Bugeon et al., 2004; Einen et al., 1998) et lors de la maturation sexuelle. Il s'agit de plus d'un caractère héritable (h²=0,58 chez la truite arc-en-ciel) (Kause et al., 2007) ce qui permet d'envisager son amélioration par sélection génétique.

### - Filetage

Après l'éviscération, le filetage consiste à séparer les masses musculaires de la carcasse (tête et axe vertébral). Le rendement filetage varie également selon les espèces, allant de 35% a 62% du poids vif. Les rendements en filet ne dépendent pas de la forme générale des poissons puisque des espèces de poissons ronds comme la morue et le saumon peuvent avoir des rendements très différents (35-40% et 55-60%, respectivement) (Jobling et al., 1994), tandis que des espèces de morphologie très différente comme le saumon (rond) et le flétan (plat) peuvent présenter des rendements comparables et élevés (60%). Pour une même espèce comme la truite arc-en-ciel ou le silure le coefficient de variation (CV) du rendement en filet est faible (3,85 et 5% respectivement) comparé par exemple à celui du poids vif (23% et 18%) (Haffray et al., 1998; Kause et al., 2007). L'allométrie de croissance du muscle est supérieure à 1, par exemple 1,05 pour la carcasse étêtée chez la carpe (Goolish et Adelman, 1988, cité par Fauconneau et al., 1995). D'ailleurs l'augmentation supérieure de la masse musculaire par rapport à celle du reste du corps se traduit par une augmentation du coefficient de condition (poids/longueur<sup>3</sup>) des poissons au cours de leur croissance. Les différences de rendement en filets peuvent être reliées à des différences de morphologie externe et d'épaisseurs de parois musculaires internes. Chez le saumon, le rendement en filet est lié à la fois à la taille des poissons et à leur forme, les poissons les plus grands et les plus épais présentant les meilleurs rendements. Il existe toutefois une morphologie "optimale" car par exemple au-delà d'un coefficient de condition de 1,5 le rendement au filetage décroît (Rora et al., 2001). La relation entre rendement en filet et morphologie externe a été démontrée chez le poisson chat (Bosworth et al., 2001; Dunham et al., 1985), la carpe (Cibert et al., 1999; Fauconneau et al., 1997) et le bar d'Amérique (Bosworth et al., 1998). Chez le poisson chat, la combinaison de mesures internes d'épaisseur musculaire par échographie avec des mesures externes permet d'améliorer nettement la prédiction des rendements par rapport à l'utilisation de mesures externes seules (Bosworth et al., 2001; Dunham et al., 1985). Selon les études, le rendement de filetage est un caractère faiblement à moyennement héritable. Une sélection directe et indirecte à l'aide d'un index comprenant le rendement à l'éviscération, le volume relatif de la tête et le rendement en filet étant une stratégie qui permet d'obtenir le meilleur gain (Kause et al., 2007). La morphologie présente toutefois une grande plasticité environnementale, par exemple des saumons maintenus en élevage présentent des têtes et des pédoncules caudaux plus petits mais un corps plus épais que leurs congénères sauvages (Cramon-Taubadel et al., 2005).

### - Parage/pelage

Les dernières étapes de découpe consistent à éliminer les tissus osseux (arêtes), adipeux (sous cutanés dorsaux et ventraux) et la peau. Le rendement au parage est donc lié au développement de ces tissus. Toutefois du fait probablement de l'élimination simultanée de tissus musculaires et d'une découpe destinée à obtenir un filet de format "standard", les corrélations entre surface de tissus adipeux et rendement au parage sont faibles (r=0,19). Ainsi, une meilleure prédiction de ce rendement est obtenue lorsque l'on introduit un indicateur morphologique comme le coefficient de condition, ce qui montre que ce rendement est sous la dépendance de plusieurs caractéristiques de l'animal (Rora et al., 1998). Des méthodes plus fines de quantification des dépôts adipeux en IRM couplées avec des mesures morphologique devraient permettre d'affiner ces prédictions.

### - Transformation

Pour finir, une fois le filet obtenu, la transformation comme la cuisson ou les étapes de salage et fumage présentent des rendements influencés par les caractéristiques initiales du produit. Ainsi, les rendements au salage sont inversement corrélés à la teneur en lipides du filet (Morkore et al., 2001; Rora et al., 1998), du fait d'une moindre teneur en eau des filets les plus gras. La morphologie du filet a également une influence, les filets les plus épais donnant les meilleurs rendements (Morkore et al., 2001), du fait d'un meilleur rapport masse/surface.

Un autre aspect qui dépend de la morphologie des poissons est l'aptitude du produit à subir les étapes de découpe comme le tranchage. Les machines à trancher peuvent être réglées pour obtenir des tranches de poids égal, et ajustent alors l'épaisseur de la tranche. Les poissons présentant des filets très hauts donnent des tranches plus fines pouvant poser des problèmes de tenue. Les poissons avec des filets très hauts ou très épais peuvent donc être moins adaptés aux étapes de tranchage mécanique, mais ces difficultés pratiques rencontrées par les transformateurs ne font toutefois pas encore l'objet de projet de recherche.

Les rendements à la cuisson dépendent de la composition des filets, mais aussi des propriétés fonctionnelles des protéines musculaires, qui vont déterminer la capacité de rétention d'eau. Ces caractéristiques sont très variables d'une espèce de poisson à l'autre.

### Oualité nutritionnelle de la chair

La chair de poisson est, d'un point de vue nutritionnel, un produit carné, et présente donc des qualités nutritionnelles proches de la viande. Ces qualités nutritionnelles ont été largement décrites (Médale, 2004), et ne seront donc que brièvement résumées ici. La chair de poisson est composée de 70 à 80 % d'eau, de 16 à 22 % de protéines, a une teneur très variable en lipides et contient des quantités négligeables de glycogène (Médale et al., 2003).

La teneur en protéines de la chair de poisson varie peu d'une espèce à l'autre. Elle augmente progressivement lors de la croissance pour se stabiliser à une valeur proche de 20% peu sensible à des modifications par l'alimentation. La teneur en protéines du muscle ne peut être altérée que lors de longue période de jeune, par exemple au moment de la reproduction chez certaines espèces. La composition en acides aminés des protéines de poissons est équilibrée, et la teneur en acides aminés essentiels est comparable à celle de la viande.

La teneur en lipides de la chair varie fortement d'une espèce à l'autre, en raison de sites de stockage préférentiels des réserves lipidiques variables selon l'espèce. La composition lipidique du muscle est le paramètre qui différencie le plus la chair de poisson par rapport à la viande des animaux terrestres. De plus, les lipides sont les constituants qui sont soumis aux variations les plus fortes tant en quantité qu'en composition. Les lipides de réserve sont constitués essentiellement par des triglycérides caractérisés par une proportion élevée d'acides gras polyinsaturés (AGPI) de la série n-3 (Médale et al., 2003). La teneur en lipides de la chair de poisson est sous le contrôle de facteurs nutritionnels (en particulier la teneur en lipides de l'aliment) (Médale et al., 2003), et par des facteurs génétiques (Quillet et al., 2005). La composition en acides gras des lipides de la chair reflète celle des lipides alimentaires c'est à dire celle de la chaîne alimentaire pour les poissons sauvages issus de la pêche, et celle des huiles incorporées dans le régime pour les poissons d'élevage (Médale et al., 2003).

L'apport en micronutriments (caroténoïdes, vitamines, minéraux et oligo-éléments) de la chair de poissons varie fortement d'une espèce à l'autre en fonction de leur alimentation et de leur milieu de vie, mais peut être particulièrement intéressant pour certains éléments comme le phosphore (pour revue : Médale et al., 2003 ; Médale, 2004)

### Qualités organoleptiques de la chair

La qualité sensorielle de la chair de poisson fraîche est difficile à évaluer de par une odeur et une flaveur subtiles, une texture plutôt molle, et une jutosité limitée par rapport à la viande (Fauconneau et Laroche, 1996).

### - La couleur et l'aspect

Si la majorité des poissons que l'on consomme sont à chair blanche, la couleur rose-orangée est caractéristique des salmonidés (truites, saumon) et constitue un critère de qualité important. Cette coloration est liée à la fixation dans le muscle de pigments caroténoïdes: l'astaxanthine et/ou la cantaxanthine, précurseurs de la vitamine A. Ce critère de qualité est essentiel car immédiatement appréciable par le consommateur et il a donc une grande influence sur la décision d'achat. Il est nécessaire que cette pigmentation soit d'intensité suffisante et la plus homogène possible au sein d'un filet. En atelier de transformation, les défauts de coloration constituent 39% des déclassements pour défaut de qualité chez le saumon Atlantique (Michie 2001). Les poissons ne peuvent synthétiser les pigments caroténoïdes, leur présence dépend donc de l'apport alimentaire (Choubert 1992). En élevage la nature et la concentration de pigment sont adaptées dans la formulation des aliments afin d'obtenir une couleur attractive pour le consommateur. Le pigment majeur incorporé dans l'aliment est l'astaxanthine, sa capacité de rétention par la truite est proportionnelle à la teneur en pigments de l'aliment jusqu'à un plateau (1mg/100g) au delà duquel l'animal ne peut plus fixer de pigments. Cette capacité de rétention dépend de facteurs endogènes comme la digestibilité des pigments caroténoïdes, leur absorption par l'intestin, leur transport sanguin par les lipoprotéines, leur métabolisme et leur fixation aux fibres musculaires (Nickell and Springate 2001). Lors de la maturation sexuelle les pigments musculaires sont mobilisés et se concentrent dans les ovaires pour la femelle et la peau chez le male ce qui provoque une décoloration importante du muscle. Le niveau de rétention des pigments dépend également de facteurs exogènes comme la source de pigments, le taux de lipides de l'aliment, ou la durée d'administration (Choubert 2001). L'aptitude à la pigmentation présente un déterminisme génétique avec des valeurs d'héritabilité (h² pour L\*=0,58; C=0,46; H=0,36) qui permettent d'introduire ce critère dans les schémas de sélection (Kause et al., 2008). L'astaxanthine se fixe de manière non spécifique sur les sites hydrophobes des protéines musculaires comme le complexe acto-myosine (Henmi et al., 1987) et également d'autres protéines (Saha et al., 2006). La capacité de pigmentation des poissons serait liée à la présence ou non de mécanismes de transport de ces pigments du sang vers le muscle (Saha et al., 2006).

La couleur de la chair n'est toutefois pas uniquement liée à celle de la concentration en pigments. Ainsi la mesure de la composante rouge (a\*) ne donne qu'une estimation imprécise de la teneur en pigments (Ronsholdt 2005) ce qui laisse supposer que ce paramètre est influencé par d'autres facteurs. Il a ainsi été démontré que la structure du muscle en terme de densité de fibres musculaires permettait d'expliquer entre 27 et 44% des différences de couleur et ce, indépendamment de la teneur en pigment (Johnston et al., 2000). Les poissons présentant une forte densité de fibres musculaires présentent une chair plus colorée du fait d'une plus forte pénétration de la lumière dans la chair.

Un autre paramètre lié à la couleur mais plus global est **l'aspect** des filets. Le faible niveau de rétention des pigments dans les tissus adipeux par rapport aux fibres musculaires permet d'obtenir un contraste de couleur entre les tissus adipeux (blanc) et le muscle pigmenté et d'apprécier ainsi visuellement la présence des zones riches en lipides. C'est le cas notamment pour les myoseptes (cloison de tissu conjonctif) qui peuvent être infiltrés de nombreux adipocytes (Zhou

et al., 1995) et contribuer à la perception visuelle de l'aspect gras de la chair. Les adipocytes sont également présents entre les faisceaux de fibres au niveau du périmysium et participent au "persillage" de la chair. Bien que ce critère ne soit pas évalué directement, on sait toutefois que la luminosité de la chair est corrélée avec la teneur en lipides et la surface des myoseptes (Marty-Mahe et al., 2004).

Le "gaping" est un défaut d'aspect (et de texture) des filets qui présentent des ouvertures des feuillets musculaires. Cette ouverture est engendrée par la rupture des myoseptes et/ou de l'interface myomère/myosepte c'est-à-dire de la jonction myotendineuse. Il est plus particulièrement prononcé sur la partie dorsale du filet. Il concerne des espèces comme la morue et les salmonidés. Il s'agit d'un défaut qui génère jusqu'à 38% des causes de déclassement car il rend délicat la transformation mécanique des poissons (tranchage difficile) et altère l'appréciation du produit par le consommateur. Ses causes exactes sont encore mal connues et son déterminisme probablement multifactoriel (biologique et technologique). Il s'agit d'un phénomène saisonnier, avec un degré d'incidence plus élevé au printemps et en été (Morkore et Rorvik 2001). La caractérisation des éléments matriciels a montré une implication possible des glygosaminoglycannes. Ainsi une espèce ne présentant pas de gaping comme le loup tacheté contient plus de chondroïtine sulfate alors qu'une espèce comme la morue qui présente plus de gaping possède plus d'heparanne sulfate (Tingbo et al., 2005). Une forte proportion de collagène insoluble est associée à une moindre apparition de gaping (Bjornevik et al., 2004; Espe et al., 2004). Mais d'autres caractéristiques du muscle et du poisson ont également une influence. Ainsi la densité en fibre musculaire est négativement corrélée avec le degré de gaping (Bjornevik et al., 2004; Johnston et al., 2002). La teneur en cuivre (cofacteurs de la lysyl oxydase) circulante est inversement corrélée avec le degré de gaping (Morkore et Austreng 2004). Enfin les poissons triploïdes présentent plus de gaping que les diploïdes (Bjornevik et al., 2004). En revanche aucun effet de la vitesse de croissance ou de la teneur du régime en vitamine C n'a été observé (Johnston et al., 2007).

### - La flaveur

La chair de poisson a globalement une flaveur assez neutre. Les composés déterminants de la flaveur de la chair de poisson sont, en ce qui concerne la saveur, les acides aminés libres, les peptides, les acides organiques, les bases quaternaires ammoniaquées et les minéraux (Haard, 1992). Ces composés sont souvent en concentration plus importante chez les poissons sauvages, que chez les poissons d'élevage, ce qui leur confère un goût plus prononcé (Haard, 1992). En ce qui concerne l'odeur, les composés d'arômes volatiles sont dérivés de l'oxydation des acides gras polyinsaturés qui pourraient donc être à l'origine des flaveurs spécifiques des poissons (Haard, 1992). Les poissons d'eau douce et d'eau de mer ont des composés volatils différents (Haard, 1992).

En dehors des différences entre espèces, le déterminisme de la flaveur de la chair de poisson est essentiellement d'origine environnementale. Ainsi, la présence "d'off-flavor" (odeur de moisi associée à un goût de vase) chez certains poissons d'eau douce a été bien décrite chez les poissons d'élevage et est due à la présence dans la chair de géosmine et d'isobornéol, produits par des micro-organismes présents dans le milieu (Fauconneau et Laroche, 1996; Robin et al., 2006). La flaveur de la chair des poissons d'élevage peut également être influencée par la teneur en lipides du muscle, et par la nature de l'aliment, en particulier par la nature des lipides et donc l'origine des matières premières.

### - La texture

La texture est une perception complexe qui intègre des critères de fermeté mais aussi de jutosité ou de fibrosité. La texture de la chair de poisson est déterminée par (1) la composition, quantité et nature des composants protéiques de la structure myofibrillaire et du tissu conjonctif ainsi que la quantité de lipides intramusculaires, et par (2) l'organisation tridimensionnelle des principaux composants musculaires que sont la structure contractile et les tissus conjonctifs de soutien.

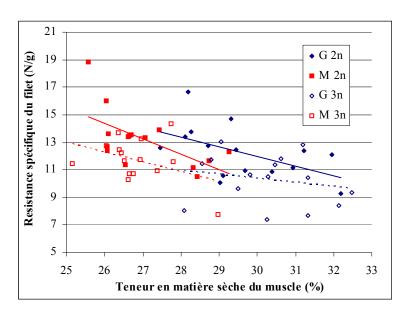
En ce qui concerne la composition, une corrélation positive a pu être établie entre la résistance mécanique de la chair crue et la teneur en collagène (principal constituant du tissu conjonctif) en comparant différentes espèces de poissons (Hatae et al., 1986 ; Sato et al., 1986). Après cuisson, une relation inverse est généralement observée du fait de la labilité thermique du collagène de poisson. Néanmoins, cette relation entre quantité de collagène et résistance mécanique de la chair n'est pas systématiquement observée. Plus récemment, une relation entre le degré de cross-link du collagène et la résistance mécanique a été démontrée sur des filets de saumon crus (Li et al., 2005). Au-delà de la quantité et des propriétés du collagène, l'organisation tridimensionnelle des fibrilles de collagène conditionne également la résistance de la structure conjonctive (Ando et al., 1992).

Du fait de la faible teneur en collagène de la chair de poisson et de sa faible stabilité thermique, on peut penser qu'une part importante du déterminisme de la fermeté revient aux fibres musculaires et aux protéines myofibrillaires, surtout pour le produit cuit. Les poissons ont une modalité de croissance musculaire originale par rapport à la plupart des animaux terrestres. La persistance d'une croissance hyperplasique, en plus de la croissance hypertrophique, tout au long de la vie de l'animal a pour conséquence d'observer une structure mosaïque du muscle, avec la coexistence de fibres de taille de très variées. Des comparaisons interspécifiques ont montré sur le produit cuit une relation inverse entre le diamètre des fibres musculaires et la fermeté de la chair (Hatae et al., 1990 ; Hurling et al., 1996), ainsi les poissons qui présentent les plus petites fibres présentent une chair plus ferme que ceux qui ont des fibres musculaires de diamètre moyen plus important. Une relation du même type, avec une fermeté supérieure chez les animaux ayant les fibres les plus petites, a été obtenue sur le saumon fumé et des filets crus de truite fario et arc-en-ciel (Johnston et al., 2000 ; Bugeon et al., 2003; Lefevre et al., 2008a). Toutefois d'autres auteurs ne trouvent pas de relation significative entre la taille des fibres et la texture chez le saumon et la morue (Bjornevik et al., 2003 ; Sigurgisladottir et al., 2000). Une telle

corrélation a été obtenue sur le produit cuit en comparant des bars d'élevage et sauvage (Periago et al., 2005) mais dans une autre étude aucune corrélation significative n'a été observée chez le bar d'élevage soumis à différentes températures d'incubation (Lopez-Albors et al., 2008). La relation intra-spécifique entre la taille des fibres et la texture du produit cuit n'est donc pas systématiquement observée, et peut dépendre des modalités de mesures de la texture.

La teneur en lipides de la chair de poisson est un élément déterminant des critères sensoriels d'hydratation. Ainsi, la chair des poissons les plus gras est perçue comme plus humide et plus juteuse (Robb et al., 2002 ; Lefevre et al., 2006). Par contre, une relation entre teneur en lipides et résistance mécanique n'est pas systématiquement observée. Quand une relation est mesurée, elle va dans le sens d'une moindre fermeté pour la chair des animaux les plus gras (Robb et al., 2002; Lefevre et al., 2006) (Figure 2).

Figure 2 : Illustration de l'effet de l'origine génétique (lignée et ploïdie) et de l'adiposité, sur la texture. Relation entre la teneur en matières sèches (corrélée à la teneur en lipides) et la résistance mécanique de la chair chez des truites arc-en-ciel sélectionnées depuis 4 générations sur la teneur en lipides musculaires. G: lignée Grasse, M: lignée Maigre. 2n: animaux diploïdes; 3n: animaux triploïdes. n=15.



Les déterminants biologiques de la texture de la chair de poisson sont donc souvent identifiés par comparaison de différentes espèces, ou entre individus d'une même espèce en faisant varier les caractéristiques musculaires en fonction de différents facteurs d'élevage, génétiques, nutritionnels ou environnementaux. Un dernier niveau de variation est observé à l'intérieur même d'un filet où l'on mesure un gradient antéropostérieur croissant de fermeté, et une plus grande résistance de la partie dorsale du filet comparée à la partie ventrale. L'augmentation antéropostérieure de la fermeté peut être reliée à une proportion croissante de muscle rouge et de tissu conjonctif, une taille moyenne des fibres musculaires plus faible en partie caudale, et une teneur en lipides du muscle blanc décroissante. La moindre fermeté de la partie ventrale du filet peut également être reliée à la plus forte présence de tissu adipeux dans la musculature qui entoure la cavité abdominale.

### Les leviers d'action

# - génétiques

L'origine génétique des poissons est un déterminant biologique majeur de tous les aspects de la qualité décrits précédemment, puisqu'elle détermine en partie la morphologie des animaux, leur composition corporelle, et la répartition ou l'organisation des tissus. Ainsi, l'étude de nombreuses familles de poissons d'élevage, essentiellement des salmonidés, a permis de montrer que des critères morphologiques, l'état d'engraissement, la couleur de la chair ou la densité des fibres musculaires du muscle blanc étaient des caractères héritables. Par contre pour le moment très peu de sélections génétiques sur des critères de qualité, autres que les rendements, ont,, été réalisées. La teneur en lipides musculaires peut être sélectionnée chez la truite arc-en-ciel sans modifier l'engraissement global des animaux et permet ainsi une certaine maîtrise des qualités nutritionnelles (Quillet et al., 2005). Le plus souvent, la qualité est analysée comme une réponse corrélée, suite à une sélection sur d'autres critères . La comparaison de ces génotypes distincts révèle souvent des différences de qualités résultant des modifications des caractéristiques musculaires. Par exemple, une sélection divergente sur la réponse au stress produit des animaux dont toutes les caractéristiques (croissance, morphologie) sont distinctes et qui ont donc des qualités différentes (Lefevre et al., 2008b). La difficulté avec une sélection monocritère sur un paramètre de qualité est qu'elle ne correspond pas à la réalité de la sélection des producteurs qui doivent préserver dans leur schéma de sélection de multiples critères de qualité de leur souche d'élevage.

Un cas particulier, chez les poissons, de l'influence du génotype sur la qualité, est la production à l'échelle commerciale d'animaux triploïdes pour s'affranchir des effets négatifs de la maturation sexuelle sur la qualité de la chair. Les animaux triploïdes ont, comparés aux diploïdes, des caractéristiques souvent différentes en ce qui concerne leur morphologie, leur niveau d'engraissement, et leurs caractéristiques musculaires, avec en particulier des fibres musculaires plus grosses qui conduisent à une texture moins ferme.

### - nutritionnels

Le niveau de rationnement des poissons a un effet sur la qualité en conditionnant la croissance globale et musculaire, et donc les caractéristiques structurales du muscle, et l'adiposité des animaux. Le niveau de rationnement a montré avoir un effet sur l'intensité du goût de la chair de truite arc-en-ciel, qui peut être relié à la teneur en lipides (Johansson et al., 2000). A l'extrême, une longue période de jeûne augmente les rendements en carcasse en diminuant l'adiposité des poissons, mais altère les propriétés organoleptiques en conduisant à une texture plus ferme mais moins juteuse (Regost et al., 2001; Bugeon et al., 2004).

La nature de l'aliment fourni aux poissons est le déterminant principal de la qualité nutritionnelle du produit. En particulier, la composition de l'aliment (teneur en lipides et en énergie) conditionne le niveau d'engraissement global (et donc les rendements) et la teneur en lipides de la chair (et donc la qualité nutritionnelle par le niveau d'apport en acides gras poly-insaturés). Comme évoqué précédemment, la nature des acides gras de l'aliment conditionne la composition en acides gras de la chair et donc sa valeur nutritionnelle. Le remplacement des farines et des huiles de poissons par d'autres matières premières, et en particulier par des matières premières d'origine végétale, peut affecter les qualités organoleptiques de la chair, en particulier sa couleur (Liu et al., 2004, Menoyo et al., 2004), parfois sa flaveur (Luzzana et al., 2003), et peut ou non affecter la texture selon les études (Regost et al., 2003; Menoyo et al., 2004).

La maîtrise de la quantité et de la nature de pigments caroténoïdes dans l'aliment est le premier déterminant de la couleur de la chair chez les salmonidés (Choubert, 1992).

### - environnementaux

L'influence des paramètres environnementaux sur la qualité des poissons est parfois difficile à mettre en évidence car cela nécessite des expérimentations souvent très longues, où tous les paramètres d'élevage sont rigoureusement contrôlés sur toute la durée. De plus certains effets observés peuvent résulter d'un différentiel de croissance provoqué par le traitement. Néanmoins, certains facteurs environnementaux ont montré avoir un effet sur la qualité.

L'exercice musculaire, induit chez les poissons par l'application d'un courant plus ou moins rapide, modifie la morphologie des animaux, les rendements et la composition. Au niveau musculaire, une vitesse de nage plus importante induit une hypertrophie des fibres musculaires et modifie certaines caractéristiques du collagène, et peut ainsi affecter certains paramètres de texture (Bugeon et al., 2003).

Les poissons étant poïkilothermes, leur température de vie conditionne leur vitesse de croissance et donc les caractéristiques de leur musculature. Au-delà de cet effet sur la croissance, la température de vie peut modifier, à taille égale, les caractéristiques métaboliques et contractiles du muscle et donc la qualité. Ces modifications peuvent aller, chez certaines espèces comme la carpe, jusqu'à l'expression d'isoformes thermo-dépendantes de protéines contractiles telles que la myosine, qui vont conditionner le comportement à la cuisson du produit. Plus généralement, quand on compare différentes espèces ayant des préférendums thermiques variés, on observe que la stabilité thermique des protéines myofibrillaires et du collagène est corrélée à la température de vie de l'espèce (Sikorski et al., 1984; Poulter et al., 1985). Paradoxalement très peu d'études rapportent, chez une même espèce, des effets de la température d'acclimatation qui soient indépendants d'un effet sur la croissance (Lopez-Albors et al., 2008). Néanmoins, un effet de la température a été démontré sur la proportion de muscle rouge, et donc sur la qualité des carcasses, chez la spare dorée (Zhang et al., 1996), et sur la couleur et la texture des filets chez l'omble chevalier (Gines et al., 2004).

Le niveau d'oxygène dissout dans l'eau est de première importance pour les poissons et une hypoxie sévère a des conséquences sur l'ensemble de la biologie des poissons et menace leur survie. Néanmoins, des niveaux d'oxygène, proche de la normoxie, peuvent également affecter le tissu musculaire. Ainsi, l'augmentation de l'oxygène dissout, de 76% à 117% de la saturation, augmente la masse musculaire, évaluée par le rendement en filets, et la proportion de muscle rouge chez la truite arc-en-ciel (Lefevre et al., 2007). Les conséquences sur la qualité de la chair sont moins notables, avec néanmoins une moindre résistance mécanique de la chair, pour les faibles déformations, pour les poissons élevés à 76% de saturation en oxygène (Lefevre et al., 2008a) (Tableau 1).

**Tableau 1**: Illustration des effets d'un facteur externe sur les caractéristiques musculaires. Effet du niveau d'oxygène de l'eau sur le rendement en filets, l'épaisseur relative de muscle rouge, et la résistance mécanique de la chair chez la truite arc-en-ciel au stade portion (400g). NS: non significatif (p>0,05), \*: p<0,05, \*\*: p<0,01, \*\*\*: p<0,001, n=24.

Niveau d'oxygène	76%	98%	117%	Effet du niveau d'oxygène
Rendement filetage (%)	$48,7 \pm 4,2 \text{ b}$	$50,7 \pm 3,4 \text{ a}$	$51,3 \pm 2,4$ a	*
Epaisseur relative de muscle rouge (%)	$41,4 \pm 8,2 \text{ b}$	$41.3 \pm 7.3 \text{ b}$	$49.8 \pm 11.0$ a	***
Résistance mécanique à faible déformation (N/g)	$1,15 \pm 0,17 \text{ b}$	1,31 ± 021 a	$1,34 \pm 0,18$ a	**
Résistance spécifique (forte déformation) (N/g)	$15,3 \pm 3,1$	$16,6 \pm 2,9$	$16,3 \pm 3,1$	NS

La photopériode peut modifier la croissance globale et musculaire de certaines espèces de poissons. En conséquences de ces effets sur la croissance, des effets sur la composition corporelle et la qualité de la chair sont le plus souvent observés (Nordgarden et al., 2003 ; Johnston et al., 2004).

Une des limites des études en conditions contrôlées, dans un contexte expérimental, est qu'elles sont le plus souvent monofactorielles, c'est-à-dire qu'elles ne s'intéressent qu'aux variations d'un seul facteur (origine génétique, aliment, ...) à la fois, alors que les différents facteurs peuvent agir en synergie et/ou en interaction. Une façon d'aborder cette difficulté est de mettre en place des protocoles multifactoriels permettant de hiérarchiser l'influence de plusieurs facteurs et d'étudier leurs interactions simultanément (Gardeur et al., 2007).

### **Conclusions**

Les poissons présentent, du point de vue de la qualité, un certain nombre de particularités qui concernent aussi bien la qualité nutritionnelle de leur chair, de par sa composition, que les qualités sensorielles de par ses originalités structurales et dans les propriétés de certains de ses composants. Les caractéristiques qualitatives des poissons, comme de leur chair, ont un déterminisme biologique majeur, souligné en particulier par l'importance de l'effet de l'origine génétique des animaux sur la qualité. Néanmoins les poissons, comme leurs produits dérivés, sont des denrées fragiles. La maîtrise de toutes les étapes *peri-mortem*, pré-abattage, les conditions d'abattage elles-mêmes, et les conditions de conservation *post-portem*, doivent être totalement maîtrisées pour conserver les caractéristiques qualitatives initiales du produit résultant de l'ensemble des conditions de production.

### Références bibliographiques

Ando M., Toyohara H., Sakaguchi M., 1992. Nippon Suisan Gakkaishi, 58, 1361-1364.

Bjornevik M., Karlsen O., Johnston I.A., Kiessling A., 2003. Aquac. Res., 34, 55-64.

Bjornevik M., Espe M., Beattie C., Nortvedt R., Kiessling A., 2004. J. Sci. Food. Agric., 84, 530-540.

Bosworth B.G., Libey G.S., Notter D.R., 1998. J. World Aquacult. Soc., 29, 40-50.

Bosworth B.G., Holland M., Brazil B.L., 2001. J. Anim. Sci., 79, 1483-1490.

Bugeon J., Lefevre F., Fauconneau B., 2003. Aquac. Res., 34, 1287-1295.

Bugeon J., Lefevre F., Fauconneau B., 2004. J. Sci. Food. Agric., 84, 1433-1441.

Choubert G., 1992. INRA-Prod. Anim., 5, 235-246.

Choubert G., 2001. In "Nutrition and Feeding of Fish and Crustaceans", eds. J. Guillaume, S. Kaushik, P. Bergot et R. Métailler, Springer Praxis, Chichester, UK., 183-196.

Cibert C., Fermon Y., Vallod D., Meunier F.J., 1999. Aquat. Living Resour., 12, 1-10.

Cramon-Taubadel N., Ling E.N., Cotter D., Wilkins N.P., 2005. J. Fish Biol., 66, 1471-1482.

Dunham R., Joyce J., Bondari K., Malvestuto S., 1985. Prog. Fish-Cul.., 47, 169-175.

Einen O., Waagan B., Thomassen M.S., 1998. Aquaculture, 166, 85-104.

Espe M., Ruohonen K., Bjornevik M., Froyland L., Nortvedt R., Kiessling A., 2004. Aquaculture, 240, 489-504.

Fauconneau B., Alami-Durante H., Laroche M., Marcel J., Vallot D., 1995. Aquaculture, 129, 265-297.

Fauconneau B., Laroche M., 1996. Aquat. Living Resour., 9, 165-179.

Fauconneau B., Bobe J., Pereira V., Vallod D., 1997. J. Morphol., 232, 253.

Gardeur J.N., Mathis N., Kobilinsky A., Brun-Bellut J., 2007. Aquaculture, 273, 50-63.

Gines R., Valdimarsdottir T., Sveinsdottir K., Thorarensen H., 2004. Food Qual. Prefer., 15, 177-185.

Haard N.F., 1992. Food Res. Int., 25, 289-307.

Haffray P., Vauchez C., Vandeputte M., Linhart O., 1998. Aquat. Living Resour., 11, 341-345.

Haffray P., Pincent C., Dupont-Nivet M., Vandeputte M., Merdy O., Chavanne H., Chatain B., 2007. Aquaculture, 272, S265.

Hatae K., Tobimatsu A., Takeyama M., Matsumoto J.J., 1986. Nippon Suisan Gakkaishi, 52, 2001-2007.

Hatae K., Yoshimatsu F., Matsumoto J.J., 1990. J. Food Sci., 55, 693-696.

Henmi H., Iwata T., Hata M., Hata M., 1987. Tohoku J. Agric. Res., 37, 101-111.

Hurling R., Rodell J.B., Hunt H.D., 1996. J. Text. Stud., 27, 679-685.

Jobling M., Meløy O.H., Santos J., Christiansen B., 1994. Aquac. Int., 2, 75-90.

Johansson L., Kiessling A., Kiessling K.H., Berglund L., 2000. Food Qual. Prefer., 11, 247-254.

Johnston I.A., Alderson R., Sandham C., Dingwall A., Mitchell D., Selkirk C., Nickell D., Baker R., Robertson B., Whyte D., Springate J., 2000. Aquaculture, 189, 335-349.

Johnston I.A., Manthri S., Alderson R., Campbell P., Mitchell D., Whyte D., Dingwall A., Nickell D., Selkirk C., Robertson B., 2002. Aquaculture, 210, 259-283.

Johnston I.A., Manthri S., Bickerdike R., Dingwall A., Luijkx R., Campbell P., Nickell D., Alderson R., 2004. Aquaculture, 237, 281-300.

Johnston I.A., Bickerdike R., Li X.J., Dingwall A., Nickel D., Alderson R., Campbell P., 2007. Aquaculture, 265, 148-155.

Kause A., Paananen T., Ritola O., Koskinen H., 2007. J. Anim Sci., 85, 3218-3227.

Kause A., Stien L.H., Rungruangsak-Torrissen K., Ritola O., Ruohonen K., Kiessling A., 2008. Livest. Sci., 114, 315-324

Lefevre F., Bugeon J., Cardinal M., Labbé L., Médale F., Quillet E., 2006. V.P.C. Sp. Issue 11<sup>èmes</sup> JSMTV, 217-218. Lefevre F., Aubin J., Louis W., Labbe L., Bugeon J., 2007. Cybium, 31, 237-243.

Lefevre F., Bugeon J., Auperin B., Aubin J., 2008a. Aquaculture, sous presse.

Lefevre F., Cos I., Pottinger T.G. Bugeon J., 2008b. Poster 12èmes JSMTV.

Li X.J., Bickerdike R., Lindsay E., Campbell P., Nickell D., Dingwall A., Johnston I.A., 2005. J. Agric. Food Chem., 53, 6844-6850.

Liu K.K.M., Barrows F.T., Hardy R.W., Dong F.M., 2004. Aquaculture, 238, 309-328.

Lopez-Albors O., Abdel I., Periago M.J., Ayala M.D., Alcazar A.G., Gracia C.M., Nathanailides C., Vazquez J.M., 2008. Aquaculture, 277, 39-51.

Luzzana U., Scolari M., Dall'Orto B.C., Caprino F., Turchini G., Orban E., Sinesio F., Valfre F., 2003. J. Appl. Ichthyol., 19, 74-78.

Marty-Mahe P., Loisel P., Fauconneau B., Haffray P., Brossard D., Davenel A., 2004. Aquaculture, 232, 225-240.

Medale F., 2004. V.P.C., Sp. Issue 10<sup>èmes</sup> JSMTV, 87-93.

Medale F., Lefevre F., Corraze G., 2003. Cahier de Nutrition et Diététique, 38, 37-44.

Menoyo D., Izquierdo, M.S., Robaina L., Gines R., Lopez-Bote C.J., Bautista J.M., 2004. Brit. J. Nutr., 92, 41-52.

Michie I., 2001. In "Farmed Fish Quality" eds. S.C. Kestin et P.D. Warriss). Oxford, UK: Fishing news Books, 129-136.

Morkore T., Vallet J.L., Cardinal M., Montero R., Torrissen O.J., Nortvedt R., Sigurgisladottir S., Thomassen M.S., 2001. J. Food Sci., 66, 1348-1354.

Morkore T., Austreng E., 2004. Aquaculture, 230, 425-437.

Morkore T., Rorvik K.A., 2001. Aquaculture, 199, 145-157.

Nickell D.C., Springate J.R.C., 2001, In "Farmed Fish Quality", eds. S.C. Kestin et P.D. Warriss, 58-75.

Nordgarden U., Ornsrud R., Hansen T., Hemre G.I., 2003. Aquacult. Nutr., 9, 161-168.

Periago M.J., Ayala M.D., Lopez-Albors O., Abdel I., Martinez C., Garcia-Alcazar A., Ros G., Gil F., 2005. Aquaculture, 249, 175-188.

Poulter R.G., Ledward D.A., Godber S., Hall G., Rowlands B., 1985. J. Food Technol., 20, 203-217.

Quillet E., Le Guillou S., Aubin J., Fauconneau B., 2005. Aquaculture, 245, 49-61.

Regost C., Arzel J., Cardinal M., Laroche M., Kaushik S.J., 2001. Aquaculture, 193, 325-345.

Regost C., Arzel J., Cardinal M., Rosenlund G., Kaushik S.J., 2003. Aquaculture, 220, 737-747.

Robb D.H.F., Kestin S.C., Warriss P.D., Nute G.R., 2002. Aquaculture, 205, 345-358.

Robin J., Cravedi J.P., Hillenweck A., Deshayes C., Vallod D., 2006. Aquaculture, 260, 128-138.

Ronsholdt B., 2005. Aquac. Res., 36, 519-524.

Rora A.M.B., Kvale A., Morkore T., Rorvik K.A., Steien S.H., Thomassen M.S., 1998. Food Res. Int., 31, 601-609.

Rora A.M.B., Morkore T., Einen O., 2001. In "Farmed Fish Quality" eds. S.C. Kestin et P.D. Warriss, 249-260.

Saha M.R., Ross N.W., Olsen R.E., Lall S.P., 2006. Comp. Biochem. Physiol., 144B, 488-495.

Sato K., Yoshinaka R., Sato M., Shimizu Y., 1986. Nippon Suisan Gakkaishi, 52, 1595-1600.

Sigurgisladottir S., Sigurdardottir M.S., Torrissen O., Vallet J.L., Hafsteinsson H., 2000. Food Res. Int., 33, 847-855.

Sikorski Z.E., Scott D.N., Buisson D.H., 1984. Crit. Rev. Food Sci Nutr., 301-343

Tingbo M.G., Kolset S.O., Ofstad R., Enersen G., Hannesson K.O., 2005. Comp. Biochem. Physiol., 140B, 349-357.

Weatherley A.H., Gill H.S., 1983. J. Fish Biol., 22, 43-60.

Zhang G.X., Swank, D.M., Rome L.C., 1996. J. Morphol., 229, 71-81.

Zhou S., Ackman R.G., Morisson C., 1995. Fish Physiol. Biochem., 14, 171-178.

Communications orales Bases Biologiques de la Qualité

# VARIATION DE LA QUALITE DE VIANDE DE PORC SELON LA RACE ET LE SYSTEME D'ELEVAGE : DISPOSITIF DE RECHERCHE DE MARQUEURS DE LA QUALITE

LEBRET B.<sup>1</sup>, BARTHELEMY S.<sup>2</sup>, BONHOMME N.<sup>1</sup>, PRUNIER A.<sup>1</sup>, DOURMAD J.Y.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR 1079 Systèmes d'Elevage et Nutrition Animale et Humaine, F-35590 Saint-Gilles <sup>2</sup>Filière Porcs Basques, La Mairie, 64430 Les Aldudes

#### Introduction

Bien que plusieurs facteurs de variation de la qualité de la viande de porc soient maintenant bien établis (gènes à effet majeur, conditions d'abattage), la qualité présente toujours une variabilité importante. Par ailleurs, les caractéristiques biologiques conduisant à une qualité sensorielle élevée ne sont pas clairement identifiées. Améliorer la qualité et réduire sa variabilité impliquent de mieux connaître les phénomènes biologiques qui gouvernent les caractéristiques tissulaires et leurs conséquences sur la qualité. La mise à disposition d'outils de classement précoce (post-mortem) des carcasses permettrait d'optimiser leur utilisation (produits frais / transformés...). Le programme européen Q-Porkchains (www.q-porkchains.org) se situe dans ce contexte et a notamment pour objectif d'identifier des marqueurs moléculaires de la qualité des viandes porcines et de produire des outils d'évaluation précoce de la qualité. Dans ce cadre, nous avons construit une expérimentation visant à mieux comprendre les différences qualitatives bien établies entre viandes issues de races locales et conventionnelles, élevées dans différents systèmes d'élevage influençant eux-mêmes la qualité (Guéblez et al., 2002; Lebret et al., 2006, 2008). Le but est de relier les caractéristiques phénotypiques des tissus musculaires et adipeux et des viandes avec l'expression de gènes et de protéines afin de 1) mieux comprendre l'origine des différences qualitatives entre races et systèmes d'élevage et 2) identifier des marqueurs de la qualité sensorielle et technologique. Cet article présente le dispositif expérimental et les résultats de croissance, composition corporelle et qualité de viande de porcs de race Basque et Large White, élevés en système alternatif, conventionnel ou extensif.

### Matériels et Méthodes

Animaux et systèmes d'élevage. Cinquante porcs mâles castrés de race pure Basque (B, n=30) ou Large White (LW, n=20) ont été utilisés. Dans chaque race à environ 35 kg de poids vif, 10 porcs (=1 groupe) étaient placés intra-portée en système d'élevage alternatif (L : litière, 1,3 m²/porc avec libre accès à une courette extérieure couverte, 1,1 m²/porc) ou conventionnel (C: caillebotis, 1,0 m²/porc), au sein de l'élevage expérimental INRA SENAH. Des demi-frères de portée des porcs B (n=10 dans un groupe de 40) étaient élevés dans le système extensif Basque (E : parc 2,5 ha avec cabane, altitude 650 m). L'alimentation des porcs L et C était plafonnée : 2,5 kg/j/porc (35-110 kg) puis 3,0 kg/j/porc (110-145 kg). Les porcs E avaient accès aux ressources du parc (herbe, glands, châtaignes) et recevaient un aliment standard: 1,4 à 2,6 kg/j/porc (35-110 kg), 2,3 kg/j/porc (110-130 kg; sept. - oct.), puis 2,0 kg/j/porc (130-150 kg; nov. janv.). Les porcs L et C étaient abattus à l'abattoir de SENAH (4 séries d'abattage) et les porcs E à l'abattoir de St-Jean-Pied-de-Port (64; 1 série d'abattage) après une mise à jeun de 36h et anesthésie électrique à bas voltage pour les 2 sites. Abattage, composition corporelle et mesures de qualité de viande. A l'abattage, du sang a été collecté pour détermination des teneurs plasmatiques en ACTH et cortisol (RIA), glucose et activité créatine kinase (CK). Le nombre de lésions sur carcasse, l'épaisseur de lard dorsal (ELD; fente, 4-5 émes dernières v. lombaires : site 'basque') et les poids de carcasse chaude, froide et des pièces de découpe ont été relevés. Le pH et la température des muscles Longissimus (LL, dernière côte) et Semimembranosus (SM, face interne) à 30 (LL) et 35 (SM) minutes p.m., ainsi que le pH ultime et la couleur à 24h, les pertes en eau (LL), la teneur en lipides des muscles (LIM) et de la bardière ont été déterminés. Analyses statistiques. Les données ont été soumises à une analyse de variance (GLM, SAS) incluant le traitement (BL, BC, BE, LWL ou LWC) comme effet principal.

### Résultats et discussion

Comme attendu, les porcs B ont une vitesse de croissance très inférieure à celle des LW et sont plus âgés à l'abattage, en particulier le lot BE (tableau 1). Malgré un léger écart de poids vif à l'abattage, le poids de carcasse est équivalent entre lots en raison du rendement en carcasse supérieur des porcs B comparés aux LW, et des porcs C comparés aux L (non montré). Les pertes au ressuage sont également moindres pour les porcs B (non montré). Les lots BE mais surtout BL et BC présentent une adiposité corporelle très supérieure à celle des LWL ou LWC. Les proportions de jambon et longe sont inférieures et celle de poitrine (non montré) supérieure pour les lots BL, BC et BE comparés aux LWL et LWC. Si les différences de croissance et de composition corporelle entre lots s'expliquent largement par l'effet race, le système d'élevage influence ces caractères pour les porcs B, le lot BE se distinguant par une moindre croissance et adiposité comparé aux lots BL et BC. Les écarts majeurs observés entre races sont en accord avec Guéblez et al. (2002) et Alfonso et al. (2005). Par contre l'effet positif du système L comparé au C sur la croissance et l'adiposité (Lebret et al., 2006) n'est pas observé, probablement en raison du rationnement alimentaire des animaux en fin de croissance.

A l'abattage, le nombre de lésions (superficielles) et l'activité CK suggèrent une activité physique pré-abattage plus élevée des porcs BE relativement aux autres lots, malgré des conditions standardisées au maximum entre les deux sites. Par contre, la race ou le système d'élevage n'influencent pas la réactivité au stress pré-abattage évalué par l'ACTH, le glucose (non montrés) et le cortisol plasmatiques. En conséquence, le pH musculaire à 30 ou 35 min p.m. est équivalent entre lots, malgré une température plus élevée des porcs B liée à leur forte adiposité. Le pH 24h (LL, SM) est supérieur pour les porcs BE en accord avec l'hypothèse d'une activité physique pré-abattage plus élevée. La couleur varie selon les lots : le lot BE présente la moindre luminance en accord avec le pHu supérieur; l'indice a\* du LL ne varie pas mais est plus élevé dans le SM des porcs B; l'indice b\* est le plus bas pour le lot BE, en particulier dans le LL. Les pertes en eau sont influencées par la race (B < LW) mais pas par le système d'élevage. Le taux de LIM varie avec la race et le système d'élevage, les lots BL et BC présentant des valeurs nettement supérieures comparées aux lots LWL et LWC, les BE étant intermédiaires comme pour l'adiposité corporelle. Les variations de qualité de viande selon la race, le système d'élevage et leurs interactions sont en accord avec Guéblez et al. (2002) et Lebret (2008).

Tableau 1. Performances de croissance, composition corporelle, mesures à l'abattage et qualité de viande

1. 1 et gott manieux de et	Race X système d'élevage			ETR	Sign. <sup>a</sup>		
	BL	BC	BE	LWL	LWC	•	
Poids final, kg	145,2 ab	138,5 a	150,0 b	145,0 ab	148,1 ab	8,3	*
Age final, j	311,5 b	319,0 b	416,2 c	230,4 a	229,0 a	18,6	***
Vitesse croissance, g/j	544 b	500 b	367 a	741 c	752 c	91	***
Poids carcasse chaude, kg	117,6	113,3	120,6	115,2	118,8	7,1	ns
ELD 4-5 VL, mm	47,8 c	43,7 bc	41,1 b	24,1 a	23,3 a	5,4	***
Comp. carcasse, % jambon	25,9 a	25,8 a	26,9 a	28,4 b	28,3 b	0,8	***
longe	17,9 a	18,0 a	18,2 a	24,1 b	23,0 b	1,0	***
bardière	15,1 c	14,6 c	12,4 b	8,3 a	8,1 a	1,5	***
Nb lésions sur carcasse	0 a	0 a	1,3 b	0,1 a	0,1 a	0,7	***
Plasma cortisol, ng/ml	44,8	62,6	41,4	38,7	57,2	25	Ns
CK, U/ml	0,95 a	0,66 a	2,11 b	1,28 a	1,34 ab	0,59	***
LL pH 30 min	6,54	6,56	6,61	6,52	6,50	0,16	Ns
température 30 min, °C	39,1 b	39,1 b	39,2 b	38,3 a	38,4 ab	0,7	**
pH 24 h	5,56 a	5,58 a	5,73 b	5,49 a	5,51 a	0,12	***
couleur L* (luminance)	52,3 b	51,4 b	47,8 a	54,2 b	53,0 b	2,9	***
a* (rouge)	10,1	10,3	9,4	9,2	8,8	1,6	Ns
b* (jaune)	7,4 b	7,1 b	5,3 a	7,5 b	6,9 b	1,0	***
Pertes eau 3 j, %	1,3 a	1,0 a	0,9 a	3,2 b	2,7 b	0,9	***
LIM, %	4,14 b	3,84 b	3,04 ab	1,94 a	2,11 a	0,9	***
SM pH 35 min	6,52	6,51	6,52	6,53	6,44	0,15	ns
température 35 min, °C	39,7 bc	40,2 c	39,7 bc	39,1 a	39,3 ab	0,5	***
pH 24 h	5,54 a	5,56 a	5,84 b	5,50 a	5,52 a	0,14	***
couleur L*	49,7 b	49,6 b	45,1 a	53,0 b	52,4 b	3,3	***
a*	14,4 b	13,5 b	13,5 b	10,5 a	9,7 a	1,8	***
b*	8,8 b	8,2 ab	6,6 a	8,2 ab	7,3 ab	1,4	**
LIM, %	5,06 c	4,75 c	3,72 bc	1,85 a	2,24 ab	1,4	***

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> ETR: écart-type résiduel; \*\*\*: P<0,001; \*\*: P<0,01; \*: P<0,05; ns: P>0,10.

## Conclusions

Les différences importantes de qualité de viande liées à la race et au système d'élevage et leur variabilité intra lot constituent une base favorable pour la recherche de marqueurs de qualité. Des analyses histologiques, biochimiques, transcriptomiques, protéomiques (INRA SENAH, QuAPA) et sensorielles (longe, jambon sec; INRA EASM) sont en cours.

### Références bibliographiques

Alfonso L., Mourot J., Insausti K., Mendizabal J.A., Arana A., 2005. An. Res. 54, 33-42. Guéblez R., Labroue F., Mercat M.J., 2002. Techni-Porc, 25, 5-15.

Lebret B., Meunier-Salaün MC., Foury A., Mormède P., Dransfield E., Dourmad JY., 2006. J. Anim. Sci., 84, 2436-47. Lebret B., 2008. Animal, *in press*.

# Remerciements

Nous remercions les éleveurs, l'abattoir, l'entreprise Oteiza du Pays Basque, le personnel de l'UMR SENAH et tous les scientifiques impliqués dans l'étude. Les auteurs remercient la participation de la Communauté Européenne, 6è PCRD, pour le Projet Intégré Q-PORKCHAINS FOOD-CT-2007-036245. Les résultats et conclusions de cet article sont sous la seule responsabilité des auteurs et ne reflètent pas nécessairement la position de la Communauté Européenne.

# CONSTRUCTION D'UNE GRILLE DE NOTATION DU « GRAIN DE VIANDE » CHEZ LES BOVINS CHAROLAIS

# OURY M. P. 1, DUMONT R. 1, DURAND Y. 2

<sup>1</sup> ENESAD, 26 Boulevard Docteur Petitjean, BP 87 999, 21 079 Dijon Cedex
 <sup>2</sup> Chambre d'Agriculture, 59 Rue du 19 mars 1962, BP 522, 71 010 Mâcon Cedex

### Introduction

En zone Charolaise, les professionnels qui jugent du potentiel « viande » des animaux, utilisent la notion de « grain de viande », la finesse du grain étant supposée être bien reliée à la qualité sensorielle de la viande.

Au niveau musculaire, certains auteurs considèrent que le grain de viande correspond au réseau observable sur une coupe transversale de muscle, à différentes échelles microscopiques et macroscopiques, qui intègre à la fois le diamètre des fibres musculaires, la matrice extra-cellulaire qui les entoure et les lipides qu'elle contient (Taylor, 1998; Purslow, 2005)

Au plan des savoir-faire, une étude ethnologique menée en 2006 pour vérifier les conditions d'utilisation de la notion de « grain de viande » a permis d'analyser en profondeur les discours des professionnels autour de cette expression afin d'en cerner la trajectoire sémantique. L'évaluation du « grain de viande » est un jugement subjectif, utilisé par les chevrillards et bouchers au moment de la coupe primaire des carcasses, permettant de sélectionner et d'orienter les carcasses en fonction de leur potentiel de tendreté. Un certain nombre de « repères pour la viande » ont alors pu être identifiés pour évaluer le grain de viande sur la carcasse et à la coupe (Delavigne, 2007).

L'objectif de cette recherche est d'expliciter certains "repères sur la viande" parmi ceux identifiées dans l'analyse ethnologique puis de les intégrer dans une grille d'évaluation utilisable en pratique.

### Matériels et méthodes

L'étude ethnologique a permis d'identifier les critères susceptibles de contribuer à la définition du grain de viande sur la carcasse. Un entretien avec deux bouchers utilisant la notion de grain de viande a permis pour chaque critère retenu, de définir les modalités extrêmes et la modalité la plus favorable, de les illustrer et de décrire la méthode d'observation. Une première ébauche de grille, complétée par une planche de photos, a été proposée puis validée par les deux bouchers questionnés. Cette grille provisoire a ensuite été mise à l'épreuve par 4 experts : trois bouchers utilisant couramment la notion de grain de viande et un professionnel formé à l'évaluation du grain de viande par ces mêmes bouchers.

Au cours de 8 séances successives, 5 carcasses de bovins Charolais représentatives de toute la gamme du grain de viande ont été notées de façon indépendante par chacun des experts, les 4 jurés étant séparés les uns des autres pour ne pas être influencés au cours de leur notation.

L'analyse statistique des résultats a eu pour objectif d'évaluer d'une part l'importance de chacun des critères évalués par rapport à la notion de grain de viande, et d'autre part la répétabilité et la reproductibilité de la grille. Pour cela, la concordance a été évaluée entre les différents postes de notation mais également entre les jurés par le coefficient de concordance de Kendall (Statistica, 2000).

# Résultats et discussion

La grille a été construite en deux sous-parties, l'une sur la demi-carcasse entière, l'autre après la coupe avant / arrière. L'appréciation sur la demi-carcasse entière, réalisée au moins 24 heures post mortem, comporte 8 critères notés entre 1 et 5. Pour chaque critère, la note de 5 a été attribuée à la modalité la plus favorable au grain de viande selon les professionnels (tableau 1). L'appréciation après découpe est réalisée sur l'arrière de la carcasse, si possible 48 heures post mortem. Elle comporte également 8 critères. Enfin, pour chaque carcasse, les experts avaient à donner une note globale d'appréciation du grain de viande.

### Concordance entre jurés

Les coefficients de concordance de Kendall (CCK) permettent d'évaluer le degré d'accord entre les jurés en déterminant le nombre de fois où les 40 carcasses ont été notées dans le même ordre de façon totale ou partielle.

Pour l'ensemble des 17 critères de la grille, les CCK sont supérieurs à 0,63 (P<0,0001), indiquant que le classement des carcasses pour les différents postes est cohérent entre les quatre experts. Le classement des carcasses est concordant pour chacun des 17 critères entre les 3 bouchers et le professionnel formé (CCK>0,60; P<0,0001), il semble ainsi possible de former à l'évaluation du grain de viande, un professionnel sensibilisé à cette notion.

### Concordance entre chacun des critères et la note d'évaluation globale du grain de viande

Au sein de 8 critères évalués sur la carcasse entière, trois sont très concordants avec l'appréciation globale du grain de viande (0,85<CCK<0,89; 0,001<P<0,01). Ces critères sont relatifs à la conformation et au développement des animaux : l'appréciation de la carcasse, l'équilibre avant-arrière et la conformation de la cuisse. Les autres critères tels que l'évaluation du développement osseux ou la sensation au toucher de la hampe et de la chaînette sont moins concordants avec l'appréciation globale du grain de viande (CCK<0,70). L'ensemble des 8 critères évalués après découpe est très concordant avec l'appréciation globale du grain de viande (0,85<CCK<0,90; P<0,001), la sensation au toucher de la noix de côte et du muscle contigu à la noix de côte étant les deux critères les plus concordants avec l'appréciation globale du grain de viande (0,93<CCK<0,95; P<0,001).

Tableau 1 : Critères retenus pour le jugement du grain de viande

Tableau 1 : Criteres retenus pour le jugement	du grain de viande	
	Note de 1	Note de 5
Appréciation sur la demi-carcasse entière		
Appréciation de la carcasse	Carcasse trop grande, beaucoup de poitrine, creuse, cabarde	Carcasse bien conformée, courte, rondelette
Equilibre avant-arrière	Carcasse mal équilibrée, trop d'avant	Carcasse bien équilibrée, peu d'avant
Conformation de la cuisse	Cuisse manquant de rondeur	Cuisse bien ronde et régulière
Appréciation du développement osseux au niveau de la crosse	Crosse grossière	Crosse fine
Appréciation de l'état d'engraissement de la carcasse	Carcasse maigre ou très grasse	Carcasse couverte
Evaluation du suintement sous la carcasse	Suintement absent ou excessif	Léger suintement
Sensation au toucher de la hampe et du filet de côte	Fibres dures et sèches	Fibres écrasantes et souples
Appréciation après coupe en quartiers		
Epaisseur relative du muscle à l'extrémité	Pas d'épaisseur de muscle, forte	Très bonne épaisseur de muscle,
des côtés, au niveau pectoral	épaisseur de gras	très peu de gras
Présence de gras intermusculaire au niveau de la 5 <sup>ème</sup> côte	Teneur très importante de gras	Teneur très limitée de gras
Observation de la noix de côte au niveau de la coupe	La coupe ne perle pas	La coupe perle
Observation des nerfs sur la noix de côte	Beaucoup de nerfs visibles	Absence totale de nerfs visibles
Observation du persillé sur la noix de côte	Persillé très visible, zones de gras très épaisses	Absence de persillé, persillé invisible
Observation des fibres de la noix de côte	Fibres très grosses, très visibles	Fibres très fines, très peu visibles
Sensation au toucher de la noix de côte et	Sensation de très rugueux, très	Sensation de lisse, doux, sans
du muscle contigu	granuleux	aspérités
Appréciation globale du grain de viande	Grain très grossier	Grain extrêmement fin

### Conclusion

Pour obtenir une viande à grain extrêmement fin, il est préférable d'avoir une carcasse bien conformée, bien équilibrée, avec une cuisse bien ronde, une forte épaisseur de muscle, une teneur limitée de gras intermusculaire, une noix de côte dont la coupe perle, sur laquelle il n'y a pas de nerf, ni de persillé, et dont les fibres sont fines et le toucher lisse et doux. Il est possible de choisir les carcasses sur le grain de viande. Il convient maintenant d'évaluer la relation entre le grain de viande et la tendreté au moyen d'évaluations sensorielles.

# Références bibliographiques

Delavigne A.E., 2007. Ethno-zootechnie, 81, 67-77 Purslow P.P., 2005. Meat Science, 70, 435-447.

Statistica Kernel version 5.5, StatSoft France, 1984-2000.

Taylor R., 1998. 7èmes Journées des Sciences du Muscle et Technologies de la Viande, 52-68.

### Remerciements

Les auteurs remercient l'ensemble des professionnels de la filière pour l'intérêt qu'ils ont porté à cette recherche et le temps qu'ils nous ont accordé. Les auteurs remercient en particulier C. Ducoté, D. Liodenot, J.-L. Nelly et R. Sandrin.

# BIF-BEEF : UN ENTREPOT DE DONNEES SUR LA BIOLOGIE DU MUSCLE POUR PREDIRE LA QUALITE DE LA VIANDE BOVINE

# MEURICE P.¹, BRUN J.P.¹, JURIE C.¹, RENAND G.², NUTE G.R.³, PICARD B.¹, HOCQUETTE J.F.¹

<sup>1</sup> INRA, UR1213, Unité de Recherches sur les Herbivores, Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle,
 <sup>2</sup> INRA, UR337, Station de Génétique Quantitative et Appliquée, 78352 Jouy-en-Josas CEDEX
 <sup>3</sup> Division of Farm Animal Science, University of Bristol, Langford BS40 5DU UK

### Introduction

Plusieurs pays (Australie, Floride aux USA, Norvège) ont initié des travaux de modélisation de la qualité de la viande bovine en utilisant des bases de données conséquentes. Une telle initiative a été prise dans le cadre du programme européen ProSafeBeef. Afin de valoriser au sein du consortium européen les travaux français accumulés depuis de nombreuses années, l'entrepôt de données BIF-Beef (Biologie Intégrative et Fonctionnelle de la Viande Bovine) propose de regrouper les données phénotypiques disponibles ayant trait aux caractéristiques du tissu musculaire et à la qualité de la viande bovine. Par entrepôt de données, nous entendons une base de données importante en volume, aux données documentées, et une interface permettant (i) de prendre connaissance du contenu de la base, (ii) d'en extraire des données sélectionnées, (iii) d'en effectuer une première analyse statistique. Nous illustrerons son utilisation au travers de l'analyse des relations entre flaveur et teneur en lipides intramusculaires (LIM).

### Approche méthodologique

Cet entrepôt repose pour l'instant sur les données de trois origines : la base de données de l'INRA nommée FiLiCol, les données du programme européen GEMQUAL et du programme français QUALVIGENE. D'autres sources sont à venir. FiLiCol (Fibres-Lipides-Collagène) est une base de données interne à l'Unité de Recherches sur les Herbivores (INRA, Theix) collectant les données expérimentales concernant l'animal, la carcasse, le muscle et la viande. Elle contient actuellement de l'ordre de 50000 mesures sur plusieurs muscles issus de 394 animaux de 6 races différentes provenant de différentes expériences menées depuis plus de 10 ans. Elle est régulièrement alimentée par les expériences en cours et a servi de point de départ au projet BIF-Beef, en particulier pour le référentiel initial des mesures (428 variables) et le modèle de données. Ce modèle de données permet l'extensibilité du référentiel.

GEMQUAL est un programme européen de recherche de polymorphismes dans des gènes qui seraient en relation avec la qualité de la viande bovine. Ce programme étant achevé, l'ensemble des données phénotypiques relevées sur le muscle *longissimus thoracis* de 435 jeunes bovins de 15 races bovines européennes a été inclus dans l'entrepôt, ce qui représente de l'ordre de 50000 mesures.

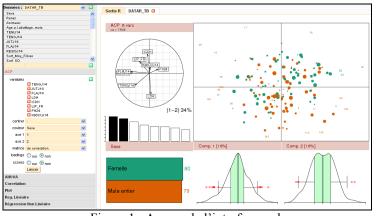
QUALVIGENE est un programme de recherche de gènes qui, par leurs polymorphismes, auraient un impact sur la qualité de la viande bovine pour les races allaitantes Blonde d'Aquitaine, Charolaise et Limousine. Les données phénotypiques portant sur le muscle *longissimus thoracis* de 3350 jeunes bovins ont été incluses dans la base, représentant environ 160000 mesures.

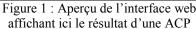
### Résultats

Afin de pouvoir exploiter les données, les 600 variables ont été clairement définies et documentées. Le rapprochement des bases a mis en évidence la difficulté de regrouper des données de sources différentes. Pour une même variable nous pouvons distinguer deux sources de dissemblance : (i) des modes d'expression différents ; c'est par exemple le cas du collagène dont la teneur peut être exprimée directement en mg par g de tissu, ou bien en µg d'OH-proline par mg de matière sèche. (ii) des conditions de mesure différentes ; l'exemple de la force de cisaillement est très représentatif de ce type de difficulté. En effet, la force de cisaillement peut être mesurée à des temps de maturation différents (2, 10 ou 14 jours après l'abattage), sur la viande crue ou cuite soit au grill à 55°C à cœur, soit au bain-marie à 80°C. Les cas où les variables sont directement comparables sont rares.

Parallèlement, une interface web a été développée afin de faciliter l'accès aux données par le scientifique. Elle permet (i) de visualiser des requêtes prédéfinies afin d'avoir une connaissance générale du contenu de l'entrepôt (référentiel des mesures, répartition des animaux par race, sexe, âge), (ii) de définir ses propres requêtes afin d'en analyser plus finement le contenu et d'en extraire les données pertinentes dans différents formats (csv, Excel, Word, HTML) et (iii) d'effectuer des analyses statistiques sur les données extraites. Les traitements disponibles de façon rapide, réalisés avec le logiciel statistique R, sont des calculs de corrélations, des ACP, des analyses de variance et des régressions linéaires ou non linéaires. Le code R généré peut être modifié ou récupéré pour une utilisation extérieure.

Une interface graphique conviviale (Figure 1) permet (i) de sélectionner rapidement les variables choisies par le scientifique et les données à analyser, (ii) de réaliser l'analyse statistique souhaitée et (iii) de visualiser les résultats sous forme graphique avec un jeu de couleurs permettant de distinguer l'origine des données ou les facteurs de variation étudiées (race ou sexe des animaux, type de muscle, etc.).





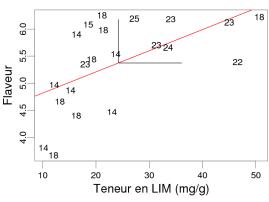


Figure 2 : Relation "teneur en lipides (LIM)flaveur" pour des mâles entiers charolais de FiLiCol représentés par leur âge en mois

A titre d'exemple, la relation documentée dans la littérature entre teneur en lipides intramusculaires (LIM) et flaveur de la viande peut être analysée en exploitant les différents jeux de données sur le muscle *longissimus thoracis*, ensemble ou séparément. Cet exemple a été choisi car les variables LIM et flaveur sont relativement comparables entre expérimentations. Toutefois, les données ont été centrées par expérimentation car la mise en œuvre de plusieurs jurys d'analyse sensorielle différents rend les notes de flaveur non comparables entre expériences.

La même corrélation significative de r=0,27 (P<0,05) a été trouvée sur l'ensemble des animaux de Gemqual (437 taurillons de 15 races européennes) et sur ceux de FiLiCol (201 taurillons, bœufs ou génisses de différentes races), ou la réunion de ces deux bases de données (r=0,25, P<0,05) (Tableau 1).

En ne sélectionnant que les animaux de la seule race charolaise, la corrélation LIM-flaveur n'est significative ni pour les femelles et les mâles castrés de FiLiCol, ni pour les jeunes bovins de GEMQUAL et de QUALVIGENE, mais seulement pour les mâles entiers de FiLiCol (Figure 2). En fait, les animaux de GEMQUAL et QUALVIGENE sont homogènes en âge (moyennes de 14,7 et 15,9 mois respectivement, écarts-types de 0,8 et 1,3), contrairement à ceux de FiLiCol (moyenne de 19,5 mois, écart-type de 4,3). Or, il apparaît que l'âge est corrélé à la fois à la teneur en lipides et à la flaveur. Ainsi, le lien entre flaveur et lipides intramusculaires semble dépendre de la variabilité de la population étudiée, notamment en termes de race et d'âge.

Tableau 1 : Corrélations "teneur en lipides intramusculaires (LIM)-flaveur" par jeu de données

		Nombre	Lipides intramusculaires		Flaveur	
Jeu de données	Corrélation	d'animaux	Moyenne	CV (%)	Moyenne	CV (%)
		u aiiiiiaux	(mg/g)	CV (70)	(note)	CV (70)
Toutes races (FiLiCol)	0,27 ***	201	25,2	42	5,8	14
Toutes races (GEMQUAL)	0,27 ***	437	25,3	68	4,5	14
Toutes races (FiLiCol et GEMQUAL)	0.25 ***	638	25,3	61	4,9	14
Charolais mâles entiers (QUALVIGENE)	0.04	1111	15,3	56	5,5	11
Charolais mâles entiers (GEMQUAL)	0,33	31	19,1	35	4,2	12
Charolais mâles entiers (FiLiCol)	0,58 **	21	24,2	49	5,4	15
Charolais bœufs (FiLiCol)	0,00	23	22,8	27	6,4	8
Charolais femelles (FiLiCol)	-0,14	22	29,4	36	6,0	8

# Conclusion

Face à la quantité de facteurs influençant la qualité de la viande bovine, une approche systémique et intégrative est incontournable. Ce travail permet d'anticiper les besoins en données nombreuses et surtout référencées. Le volume de données apporte à la fois un poids statistique et une meilleure connaissance de la variabilité en fonction de différents critères (race, âge, sexe, etc) soulignant la nécessité d'implémenter sous l'interface web d'autres types d'analyses tel que le modèle linéaire (covariance) pour prendre en compte ces effets.

Toutefois, l'hétérogénéité des schémas expérimentaux et des variables doit être prise en compte afin d'éviter des analyses et des interprétations biaisées. L'identification de variables d'intérêt et la mise en place d'un référentiel de variables accepté et utilisé par le plus grand nombre semblent essentielles. Ainsi, la définition de lois biologiques liant les différentes variables sera envisageable. Ce travail de modélisation fera alors apparaître des manques de connaissances nécessitant de nouveaux schémas expérimentaux.

### Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le cadre du programme européen ProSafeBeef et du Programme Régional d'Actions Innovatrices (PRAI) e-nnovergne LifeGrid cofinancé par le Fonds européen de développement régional (FEDER). Nous remercions les partenaires des programmes QUALVIGENE, GEMQUAL et FiLiCol pour l'accès aux données.

# EXPERTISE SCIENTIFIQUE DU SYSTEME AUSTRALIEN DE PREDICTION DE LA QUALITE SENSORIELLE DE LA VIANDE BOVINE (Système MSA)

# JURIE C.<sup>1</sup>, MOËVI I.<sup>2</sup>, MICOL D.<sup>1</sup>, HOCQUETTE J-F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INRA, Unité de Recherches sur les Herbivores, Theix, 63122 Saint Genès Champanelle, France <sup>2</sup> Institut de l'Elevage, Service Qualité des Viandes, 14310 Villers-Bocage, France

### Introduction

Le système MSA "Meat Standards Australia" est mis en place en Australie depuis 1996 afin de constituer un système de prédiction et de garantie de la qualité sensorielle de la viande bovine pour les consommateurs. Il a été établi à partir d'une base de données regroupant un grand nombre de tests consommateurs incluant différents modes de cuisson, des données sur l'animal avant (production) et après (transformation) l'abattage. L'analyse des tests consommateurs a permis de définir le "Meat Quality Score" (MQ4), noté de 0 à 100, soit une combinaison des notes de tendreté, jutosité, flaveur et d'appréciation globale. En parallèle des données organoleptiques, différents niveaux de qualité ont été affectés par les consommateurs : insuffisant, MSA 3 (Tenderness Guaranteed), MSA 4 (Premium Tenderness) et MSA 5 (Supreme Tenderness). Une analyse factorielle a permis d'identifier une dizaine de critères les plus explicatifs du score MQ4. Ceci a permis l'élaboration d'un modèle de prédiction de la qualité qui, à partir des caractéristiques pré et post-abattage d'un animal donné, prévoit le niveau de qualité pour chaque combinaison muscle × mode de cuisson × durée de maturation. Ce texte a pour objectif de présenter les critères pré- et post-abattage retenus par le système MSA, et de discuter leur pertinence dans le contexte français, suite à une expertise réalisée à la demande d'INTERBEV (Moëvi et al., 2008).

# Deux critères majeurs de qualité : le type de muscle et le mode de cuisson

Le score MQ4 peut varier jusqu'à 30 unités selon **le muscle**, c'est ainsi le facteur le plus influant. En effet, la teneur en collagène et les propriétés des fibres musculaires, très variables entre muscles, influent fortement sur les qualités organoleptiques de la viande, en particulier la tendreté. Ce principe d'entrée dans le système par le muscle rend compte de toutes les connaissances techniques et des savoir-faire bouchers sur le rôle du muscle sur la tendreté de la viande. **Le mode de cuisson** retenu (grill, rôti, braisé, bouilli, wok, shabu-shabu, ...) est le second facteur d'importance qui influence la qualité sensorielle de la viande. L'une des originalités du système MSA est en particulier de fournir un niveau de qualité pour un muscle donné pour chacun de ses modes de cuisson appropriés.

# Les critères d'exclusion du système MSA

D'emblée sont exclus de la démarche de qualification MSA les jeunes bovins mâles non castrés, les femelles pleines ou venant de vêler et les animaux âgés de plus de 42 mois. Ceci est le reflet des types de production pratiqués en Australie et des habitudes de consommation (bouvillons et jeunes femelles). Comme dans la plupart des pays anglo-saxons, il n'y a pas de production de taurillons (tous les mâles étant castrés jeunes), ni de consommation de viande issue de vaches de réforme, celles-ci étant destinées en majorité à l'exportation. Aussi, ce schéma de consommation de viande bovine en Australie est bien différent de celui de la France qui compte 10% de bœufs, 15% de taurillons et 75% de femelles (10% de génisses et 65% de vaches de réforme). De ce fait, seulement 20% environ des viandes françaises pourraient prétendre à une prise en compte dans le système MSA selon les critères d'exclusion actuellement retenus.

## Les critères prédicteurs de la qualité de la viande bovine

Parmi <u>les critères antérieurs à l'abattage retenus</u>, 3 critères : **le pourcentage de sang exotique**, **les implants d'hormones de croissance** et **le passage des animaux par un marché aux bestiaux** se traduisent par un impact négatif sur le score MQ4. Leur pertinence est justifiée dans le contexte australien, compte tenu des facteurs de variation et de conduite des bovins à viande en Australie. En effet, le pourcentage de sang exotique, déterminé par la hauteur de la bosse, est une estimation du pourcentage de race tropicale ou du genre *bos indicus*; les races tropicales et leur croisement représentant environ 40% du cheptel australien. Les implants d'hormones de croissance sont autorisés et utilisés en Australie. Toutefois ces critères n'ont pas d'application dans le cadre français et européen. Deux critères : **le sexe de l'animal** (mâle castré ou femelle) et **la vitesse de croissance** globale durant la vie productive de l'animal interviennent favorablement sur le score MQ4. Un avantage est donné aux bouvillons comparativement aux génisses, en raison de leur abattage plus précoce (18 - 24 mois) que celui des génisses (> 24 mois). Un gain moyen quotidien de 0,5 à 1,5 kg/j durant les 30 jours avant l'abattage est exigé par le système MSA. Pour cela une finition intensive en feedlot est recommandée. Les études portant sur l'influence de la vitesse de la croissance à travers le monde et notamment en France (Oury et al., 2005) confirment son effet favorable sur les qualités organoleptiques de la viande.

Sept <u>critères retenus post-abattage</u> sont pris en compte dans le système MSA : la durée de maturation, le mode de suspension des carcasses et 5 autres critères qui reposent sur des mesures effectuées sur la carcasse : l'indice d'ossification, le pH ultime, l'épaisseur de tissu adipeux sous-cutané, le persillé, la couleur de la viande.

Tous les produits certifiés MSA doivent avoir **un minimum de 5 jours de maturation** avant d'être vendus au consommateur. Le classement d'un morceau de viande en MSA 3, 4 ou 5 repose en grande partie sur la durée de maturation, durée qui peut atteindre 42 jours. En France, la norme (NF V46-001), concernant les conditions de valorisation du potentiel de tendreté des gros bovins, indique 7 ou 10 jours, ou jusqu'à 14 jours sur les cahiers des charges labels rouges.

La suspension pelvienne est privilégiée par rapport à la suspension par le tendon d'Achille. En effet, plusieurs études australiennes montrent que la suspension pelvienne augmente significativement la tendreté des muscles issus des quartiers arrière de l'animal. Toutefois la différence entre les deux modes de suspension est d'autant plus marquée que la durée de maturation est faible. De récents travaux français confirment l'intérêt de la suspension pelvienne (Bastien, 2002), mais actuellement son développement est limité en France. L'indice d'ossification permet d'estimer la maturité physiologique de la carcasse, essentiellement liée à l'âge de l'animal. En Australie, l'âge des animaux n'est pas disponible à l'abattoir, contrairement à la situation française. La maturité physiologique est considérée comme inversement proportionnelle aux qualités organoleptiques, en lien direct avec les caractéristiques des muscles, en particulier le développement du collagène avec l'âge. Plus l'indice d'ossification est élevé, plus la viande est estimée dure. Le système MSA n'accepte donc, à ce jour, que les animaux d'un âge inférieur à 42 mois (indice d'ossification inférieur à 300). Cette situation, pertinente pour l'Australie, correspond assez mal aux types de bovins produits et surtout consommés en France, avec la prépondérance des vaches de réforme. Le pH ultime doit se situer entre 5,3 et 5,7 pour que la carcasse soit classée MSA. La limite de 5,7 semble très sévère au regard des pratiques françaises, qui préconisent plutôt une valeur inférieure à 6,0, quelquefois 5,9 ou 5,8 selon les cahiers des charges. Une attention toute particulière est apportée aux chutes du pH et de la température dans le système MSA afin d'éviter les phénomènes de contracture au chaud ou au froid. Ces règles sont également bien connues en France et prises en compte, mais ne font pas l'objet d'un suivi systématique. Les critères épaisseur du tissu adipeux sous-cutané et couleur de la viande reposent sur des recommandations précises. Le critère épaisseur du tissu adipeux sous-cutané veut rendre compte de l'état d'engraissement de la carcasse. Il fait l'objet d'une notation plus globale en France, réalisée sur la carcasse émoussée selon la grille EUROPA de 1 à 5. La prise en compte de la couleur de la viande comme critère d'exclusion de la démarche au delà de certains seuils pose question. En effet, le lien avec la satisfaction en bouche (donc le MQ4) n'est pas évident, à moins d'une confusion entre les couleurs les plus soutenues et les viandes à pH trop élevé, ces dernières étant considérées comme plus dures. Des études australiennes ont montré qu'il existait un réel effet positif du persillé sur la classification de la viande dans le système MSA. Toutefois, au niveau « 5 étoiles », l'effet du persillé était surtout positivement corrélé à la jutosité et à la flaveur. Les études françaises reliant la flaveur de la viande à son taux de lipides intramusculaires montrent une relation linéaire croissante entre ces deux paramètres pour des taux de lipides intramusculaires allant jusqu'à 3-4%, au-delà la flaveur évolue moins (Goutefongea et Valin, 1978). Toutefois les taux de lipides en France sont bien plus faibles qu'en Australie.

Enfin, parmi les critères pris en compte pour le calcul du score MQ4 du système MSA, le **critère relatif à la conformation des animaux** n'est pas pris en compte, critère de base de classification des carcasses dans les filières de viande bovine européennes (système EUROPA). Une explication réside peut-être dans le peu de variabilité de conformation en Australie (jeunes bœufs et génisses) par rapport aux génotypes et types d'animaux en Europe (vaches de réforme, taurillons, génisses et bœufs). Néanmoins, la conformation se veut surtout être le reflet de la quantité de muscle de la carcasse et moins de la qualité sensorielle de la viande.

### Conclusion

Le système MSA constitue le premier système élaboré de prédiction de la garantie sensorielle d'un muscle ou d'une pièce de viande bovine en fonction du mode de cuisson à destination du consommateur. En effet, ce modèle a été fondé à partir des appréciations des consommateurs et il leur est destiné. C'est un système en évolution constante avec des tests consommateurs réguliers, effectués dans le but de maintenir ou de faire évoluer le système avec l'introduction de nouveaux critères ou indicateurs de la qualité. La rigueur de la démarche peut se résumer en 3 points : accumulation de données, recherche de facteurs influençant la qualité de la viande, et construction du modèle. Néanmoins c'est un modèle coûteux dans sa mise en place et son suivi, et la question se pose de savoir si la communication des résultats à la sortie sous la forme MSA 3, 4 ou 5 étoiles est trop simpliste ou représente un atout. Enfin ce système, dans l'état actuel, est surtout adapté à la filière bovine australienne. Des adaptations seraient nécessaires si l'on souhaitait l'appliquer en France ou en Europe. Ceci fait l'objet d'une action de recherche spécifique dans le cadre du programme européen ProSafeBeef (2007-2011).

### Références

Bastien D., 2002. Compte rendu final n° 2023208. Institut de l'Elevage, Interbev, Ofival.

Goutefongea R., Valin, C., 1978. Annales de Technologie Agricole, 27 (3), 609-627.

Moëvi I., Hocquette J-F., Jurie C., Micol D., 2008. Compte rendu final n° 170832010. Rapport TEND-06-058 pour Interbev et l'Office de l'Elevage.

Oury M.P., Micol D., Labouré H., Roux M., Dumont R., 2005. EAAP publication, 112, 447-451.

Les principales publications d'origine australienne ayant servi de base à l'élaboration du système MSA sont à disposition auprès des auteurs.

# MEAT DESTRUCTURATION INDICATOR (MDI): DEVELOPPEMENT D'UNE METHODE PERMETTANT DE MESURER LA DESTRUCTURATION DE LA FIBRE MUSCULAIRE

# SIFRE L., ANDRE B., COTON J-P HISTALIM, 126 rue Emile Baudot 34000 Montpellier, France.

#### Introduction

L'annexe I du règlement CE n° 853/2004 définit les viandes séparées mécaniquement (VSM), comme "le produit obtenu par l'enlèvement de la viande des os couverts de chair après le désossage ou des carcasses de volailles, en utilisant des moyens mécaniques entraînant la perte ou la modification de la structure fibreuse des muscles". Ce phénomène, que nous appelons déstructuration, peut être visualisé grâce à l'analyse histologique. Cependant il est également nécessaire de définir quel est le degré de déstructuration correspondant à la définition des VSM citée précédemment. Ainsi la quantification et une définition de la limite caractérisant les VSM sont nécessaires. Or, jusqu'à présent, aucune méthode d'analyse suffisamment précise et reproductible n'a été mise au point pour quantifier le niveau de déstructuration des fibres musculaires (Henckel, 2004 et Labas, 2006). De plus il n'existe pas d'unité de mesure pour exprimer les résultats.

Ainsi, des échantillons ont été à la fois caractérisés par analyse d'images histologiques et présentés à un panel de professionnels représentatif du marché européen des matières premières carnées. Ce panel a évalué la texture des échantillons et les résultats ont été mis en relation avec des analyses histologiques afin de définir une unité de déstructuration et une limite caractérisant les VSM, telles que définies dans le règlement (CE) n° 853/2004.

#### Matériels et méthodes

Les 3 espèces principales utilisées pour la production de viande séparées mécaniquement étaient représentées : porc, poulet et dinde. Pour couvrir la diversité du marché, 21 échantillons de matière première provenant de différents fabricants européens utilisant différentes marques de machine et des paramètres de fabrication variables ont été testés. L'étude a été complétée par 2 échantillons témoins pour chaque espèce: un échantillon de viande entière (niveau minimal de déstructuration) et un échantillon de viande hachée (viande désossée manuellement puis hachée avec une grille 3 mm).

Pour chaque échantillon, 5 coupes histologiques (5 cm² et 5 μm d'épaisseur) ont été réalisées selon la norme NF V04 417 (AFNOR, 1999), puis colorées suivant la méthode de Calleja (Martoja, 1967). Au moins 50 images ont été numérisées pour chaque coupe à l'aide d'un microscope Leica DM4000 muni d'une caméra numérique (Infinity 2-1C, Lumenera, Canada), à un grossissement × 50. Les images ont ensuite été analysées en utilisant un algorithme de segmentation développé avec le logiciel VISILOG (Noesis, France), séparant les différentes composantes et calculant la surface occupée par chacune d'entre elles.

Ces analyses histologiques ont été mises en parallèle avec l'évaluation sensorielle des échantillons par un panel de 126 professionnels représentaifs du marché des matières premières carnées. Ils représentaient 10 pays différents et 103 entreprises et organisations. Chaque juge a répondu à 2 questions. Pour la 1<sup>ère</sup> question, chaque juge devait classer les 3 produits de chaque assiette du moins déstructuré au plus déstructuré, en utilisant le toucher et la vue. Pour la 2<sup>nde</sup> question, les juges décidaient, en se fondant sur le niveau de déstructuration observé et leur expérience professionnelle, si l'échantillon devait être considéré comme de la VSM ou comme de la "viande" dans un produit transformé. L'analyse statistique des réponses, réalisée avec le logiciel XLSTAT (Addinsoft, France), a permis de déterminer un classement des échantillons en fonction de leur niveau de déstructuration et une limite caractérisant les VSM sur notre échelle de déstructuration.

### Résultats

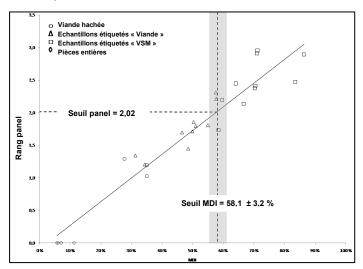
La coloration de Calleja peut être utilisé pour visualiser les différentes phases de déstructuration dans une matière première de viande. Pour évaluer son niveau de déstructuration l'algorithme de segmentation distingue les différentes composantes et calcule la surface occupée par chacune :

- les fibres non-déstructurées : fibres musculaires dont la structure est conservée (FND)
- les fibres déstructurées et les zones amorphes : fibres musculaires dont le contenu semble être très "bruité" en raison de la désorganisation interne des protéines myofibrillaires et des noyaux (FD)
- les espaces extracellulaires : zones entourant les fibres non-déstructurées, représentant l'espace créé par l'eau libérée par les fibres musculaires lors des différents traitements subis par l'échantillon (EEC)
- les lacunes : autres zones de vide créées par lessivage des graisses et des zones amorphes (LAC)
- le tissu conjonctif : fragments d'os, de cartilage et de tendon (TC)
- les adipocytes (ADIP).

Un indice de déstructuration a été calculé de la manière suivante : (LAC + FD) / (FND + EEC + FD + LAC).

Toutefois, cet indicateur doit être soumis à plusieurs contraintes. Les valeurs d'une grande majorité d'échantillons présents sur le marché doivent être comprises entre 0 et 100%. La progression aux extrémités du champ d'application

doit être réduite. Nous avons donc lissé le ratio obtenu par une forme polynomiale, pour obtenir **MDI** =  $\mathbf{A} \mathbf{x}^3 + \mathbf{B} \mathbf{x}^2 + \mathbf{C} \mathbf{x} + \mathbf{D}$ , où x est l'indice de déstructuration défini ci-dessus et  $\mathbf{A} = 2$ ,  $\mathbf{B} = 0,7$ ,  $\mathbf{C} = 0,1$  et  $\mathbf{D} = 0$ .



**Figure 1 :** Rang moyen donné par le panel en fonction de la valeur MDI déterminée par analyse histologique.

La corrélation entre la valeur de MDI et les résultats du panel (figure 1) est très forte puisque  ${\bf r}={\bf 0,95}$  (p < 0,0001). L'incertitude du MDI a été calculée en se fondant sur la répétabilité de la méthode :  ${\bf Ur}={\bf 3,2\%}$ . Les points critiques de la méthode ont été identifiés et fixés volontairement. Leur impact sur le résultat est en cours d'étude afin d'obtenir une caractérisation plus complète de la méthode en vue de son transfert vers d'autres laboratoires.

Les résultats de la 2<sup>nde</sup> question du panel ont également permis de déterminer la limite VIANDE - VSM exprimée en MDI à **58,1%**. Ainsi, les

matières premières de viande avec un MDI < 58,1% pourraient être considérées comme de la viande dans un produit transformé fini. A contrario, les matières premières de viande avec un MDI > 58,1% contiennent des fibres musculaires suffisamment déstructurées pour être considérées comme des VSM.

#### Discussion

Au-delà de l'analyse d'un échantillon, la méthode MDI peut permettre de caractériser l'impact de divers paramètres du processus de fabrication sur le niveau de déstructuration d'un produit. Par exemple, mesurer le niveau de déstructuration peut contribuer à améliorer la conception de procédés de séparation mécanique ou à optimiser les paramètres de réglage ou les conditions d'utilisation des machines.

La fragilité microbiologique est le principal inconvénient de VSM (Gill, 1988). C'est la raison pour laquelle leur définition est incluse dans le règlement (CE) n ° 853 / 2004. La connaissance de la relation entre le niveau de déstructuration et les cinétiques de développement bactérien permettrait de mieux contrôler les risques microbiologiques des matières premières carnées et ainsi savoir si plusieurs catégories de ces produits peuvent être distinguées en fonction de leur niveau de déstructuration.

Enfin, l'utilisation de VSM semble avoir un impact sur la texture des produits transformés (Calhoun, Schnell, et Mandigo, 1999). L'analyse MDI permettra l'étude précise de la relation entre le niveau de déstructuration et les propriétés technologiques et sensorielles des produits finis.

L'ensemble de ces questions sera abordé dans le cadre d'un projet Eurostars (nommé LOTIMS), qu'HISTALIM mènera à partir de l'automne 2008 en collaboration avec l'université d'Aarhus (Danemark).

# Conclusion

Le Meat Destructuration Indicator ou MDI propose aux professionnels du marché des matières premières carnées (fabricants de matières premières, de machines de séparation mécanique et de produits transformés, distributeurs et organismes réglementaires) une méthode d'analyse fiable et reproductible et une unité de mesure étalonnée à l'aide des produits représentatifs du marché actuel, grâce à un panel regroupant 126 professionnels européens.

## Références bibliographiques

AFNOR, 1999. NF V04-417.

Anonyme, 2004. Official Journal of the European Communities, L 226/22-82.

Calhoun C., Schnell T. D., Mandigo R., 1999. J. Food Sci. 64 (1), 76-81.

Gill C., 1988. Edible meat by-products, 47-82.

Henckel P., Vyberg M., Thode S., Hermansen S., 2004. LWT-Food science and Technology, 37 (6), 593-601. Labas R., Astruc T., Taylor R., Martin J. L., Vendeuvre J. L., 2006. Proceedings of the 52<sup>nd</sup> *ICoMST*, 415-416. Martoja R., Martoja M., 1967. Initiation aux techniques de l'histologie animale.

### Remerciements

- AIA (Italie), BAUWENS (Belgique), KIPCO-DAMACO (Belgique), NWT (Allemagne), POLSKAMP (Pays Bas), SFV (France), SN FAVID (France), SNV (France), SOCACOL (France), and TULIP-DANISH CROWN (Danemark) pour leurs échantillons.
- AM2C (France), LIMA (France) and TOWNSEND (Pays Bas) pour leur aide technique.
- les 126 participants des panels sensoriels.

Posters Bases Biologiques de la Qualité

# MORPHOLOGIE DU SARCOLEMME DE FIBRES MUSCULAIRES ANOXIQUES : RESULTATS PRELIMINAIRES.

### ASTRUC T.

### UR 370 QuaPA, INRA de Theix, 63122 Saint Genès Champanelle

### Introduction

Le muscle squelettique contient en moyenne de 75 % d'eau. Le pouvoir de rétention d'eau de la viande est d'une grande importance pour la filière dans la mesure où il conditionne le rendement technologique du produit et donc sa valeur marchande. Il influence d'autre part les propriétés sensorielles des viandes comme leur jutosité, leur tendreté et leur couleur. Dans les viandes fraîches, les pertes en eau se font par évaporation au cours de la réfrigération des carcasses (2 % du poids de la carcasse) puis par exsudation lors du conditionnement des morceaux (de 2 à 6 % de leur poids initial). Dans le muscle in vivo, 85 % de l'eau est située dans les myofibrilles (Offer et Knight, 1988). Après l'abattage, une partie de l'eau liée aux protéines myofibrillaires est relarguée dans le sarcoplasme avant d'être évacuée dans l'espace extracellulaire puis exsudée par les extrémités coupées des muscles. Bien que certains critères comme le stress à l'abattage ou encore les conditions de réfrigération des carcasses soient connus pour affecter sensiblement l'amplitude d'exsudation des viandes, les mécanismes de base des transferts aqueux ne sont encore pas totalement élucidés. Il est admis que la contraction latérale des myofibrilles au cours de la phase de rigor-mortis, conduit à une expulsion de l'eau dans le sarcoplasme. En revanche, les mécanismes de transfert d'eau dans l'espace extracellulaire sont encore incertains. Fisher (1982, cité par Offer et Knight 1988) propose une diffusion passive de l'eau au travers des membranes. Par des méthodes de physiologie cellulaire, Heffron et Hegarty (1974) suspectent une détérioration du sarcolemme dès 4 heures postmortem dans le muscle de souris, alors que Currie et Wolfe (1983) observent après l'installation de la rigor une modification de la perméabilité membranaire des cellules musculaires de bovin qu'ils attribuent à la détérioration du sarcolemme. Ces auteurs suggèrent que cette évolution fonctionnelle du sarcolemme est impliquée dans les mécanismes de transferts d'eau entre le sarcoplasme et l'espace extracellulaire. Rowe (1989) observe quant à lui en microscopie électronique à balayage ce qu'il interprète comme étant des perforations membranaires sur du muscle de bovin prélevé 24 heures post-mortem. Les connaissances concrètes sur l'état des membranes dans le muscle anoxique restent cependant à démontrer, ce qui nous a incité à réaliser cette étude du suivi de l'évolution morphologique du sarcolemme dans le muscle anoxique en utilisant une approche d'observation en microscopie électronique en transmission.

### Matériel et Méthodes

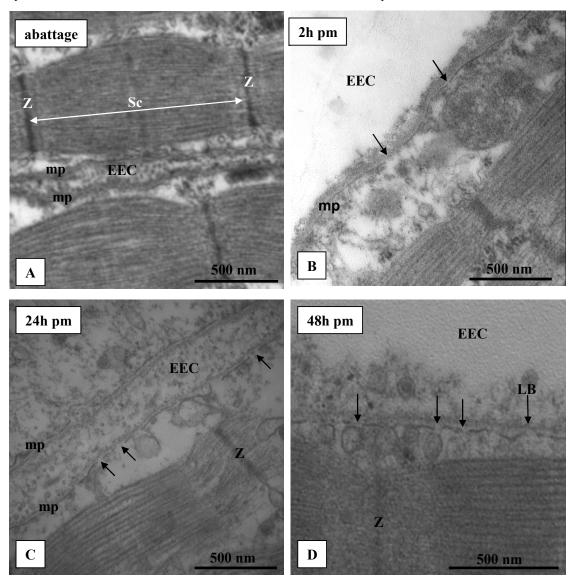
Une souris a été sacrifiée et la peau a été incisée pour accéder au muscle longissimus dorsi. Un premier prélèvement de muscle (0.5 X 2 mm) a été réalisé à l'abattage en prenant soin de repérer le sens des fibres, puis la souris a été enveloppée dans du papier aluminium et stockée entière à 4 °C au réfrigérateur. Les prélèvements suivants ont été réalisés 15 min, 30 min, 1h, 2h, 4h, 8h, 12h, 24h et 48h après abattage.

Chaque prélèvement a été fixé chimiquement par immersion pendant 12 h dans une solution de tampon cacodylate de sodium 0.1 M, pH 7.4. Les échantillons ont ensuite subit une post-fixation au tétroxyde d'osmium puis ont été déshydratés par immersion dans des bains successifs d'éthanol à concentrations croissantes, puis dans un bain d'oxyde de propylène avant inclusion en résine époxy. Les coupes ultrafines (sections transversales et longitudinales, épaisseur 80 nm) ont été contrastées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb et observées au microscope électronique en transmission (Hitachi HM 7650) Les images ont été acquises à l'aide d'une caméra numérique (Megaview –Hamamatsu) couplée à un logiciel d'acquisition numérique.

### Résultats et discussion

Les observations ont été ciblées sur les membranes plasmiques (fig. 1). Le prélèvement fixé dès l'abattage (photo A) présente une bonne conservation des structures myofibrillaires et membranaires. Dès 2 heures post mortem (photo B), on remarque pour certaines cellules une discontinuité de la membrane plasmique. Ce phénomène est d'autant plus fréquent que le délai de conservation à 4 °C augmente (photos C et D). Cependant, certaines cellules ne présentent aucune détérioration morphologique détectable de leurs membranes même après 48 heures d'anoxie. La taille moyenne approximative des trous est voisine de 20 nm, bien que des discontinuités de 60 nm aient été mesurées. La position des trous semble aléatoire et être indépendante de la proximité des costamères, protéines de structures qui lient la membrane aux myofibrilles périphériques visibles sur les photos A et C. Ces résultats confirment les hypothèses formulées par Heffron et Hegarty (1974) et les résultats de Currie et Wolfe (1983) et Rowe (1989). Cependant, contrairement à ce dernier auteur, nous n'observons pas de

modification de la lame basale qui semble garder son intégrité. Cette différence est peut être liée au fait que la préparation de l'échantillon en vue d'observation en microscopie électronique à balayage utilisée par Rowe, est susceptible de modifier la matrice extracellulaire et « d'arracher » tout ou partie de la lame basale.



## Conclusions

Ces résultats préliminaires indiquent que le sarcolemme subit des modifications physiques et des détériorations après la mort de l'animal susceptibles de moduler les transferts d'eau dans le muscle. Des recherches supplémentaires sont nécessaires à la compréhension des mécanismes par lesquels les membranes se perforent et pour établir le lien avec l'évolution biochimique du muscle post-mortem.

## Références bibliographiques

Currie R.W., Wolfe F.H., 1983. Meat Science, 8, 147-161.

Fisher R. F., 1982. Proc. Roy Soc. London B, 216, 475.

Heffron J.J.A., Hegarty G.R., 1974. Comparative Biochemistry and Physiology 49A, 43-56.

Offer G., Knight P., 1988. In R. Lawrie (ed). Developments in. Meat Science, 4, 63-243. London Elsevier Science Publication.

Rowe, R. W. D. 1989. Meat Science, 26, 271-279.

# DEVELOPPEMENT D'UN MODELE *IN VITRO* DE CULTURE D'ADIPOCYTES BOVINS POUR ETUDIER LES INTERACTIONS ENTRE ADIPOCYTES, MYOBLASTES ET FIBROBLASTES

BONNET M.  $^{1},$  CASSAR-MALEK I.  $^{2},$  DELAVAUD A.  $^{2},$  TOURRET M.  $^{1},$  CHILLIARD Y.  $^{1},$  PICARD B.  $^{2}$ 

UR1213 Unité de Recherche sur les Herbivores, <sup>1</sup> équipe Tissu Adipeux et Lipides du Lait, <sup>2</sup> équipe Croissance et Métabolisme du Muscle, F-63122 St Genès Champanelle,

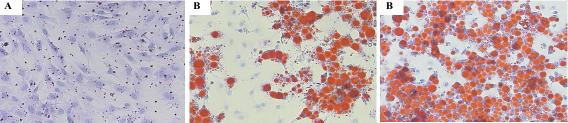
### Introduction

L'équilibre entre masse grasse et masse maigre conditionne en partie la qualité des carcasses et de la viande. En effet, un développement excessif des tissus adipeux (TA) entraîne un manque à gagner sur la masse de muscle produite et une dépréciation de la valeur des carcasses. Par ailleurs, les TA inter- et intra-musculaires contribuent, avec les fibres musculaires et le tissu conjonctif à la qualité sensorielle de la viande. Or les développements musculaires et adipeux sont étroitement liés. En effet, la croissance musculaire se fait au détriment de la croissance du TA, comme observé chez les races bovines extrêmes pour leur rapport masse grasse/masse maigre. Une interaction négative entre adipocytes et myofibres pour la différenciation cellulaire et l'utilisation des nutriments énergétiques pourrait expliquer la mise en place tardive et la moindre capacité lipogénique de l'ensemble des TA chez les bovins à fort développement musculaire. Cependant les mécanismes d'interactions cellulaires et moléculaires mis en jeu lors de la différenciation et de l'utilisation des nutriments, ainsi que les rôles paracrines des facteurs adipocytaires ou musculaires, respectivement sur les myofibres et les adipocytes, restent mal connus. Aussi, afin d'étudier les interactions mises en jeu lors de la croissance des TA et des muscles, nous avons développé des modèles de co-cultures des types cellulaires participant à l'élaboration de ces tissus (myoblastes, fibroblastes, adipocytes). Pour atteindre cet objectif nous avons en particulier développé un modèle de cultures primaires d'adipocytes bovins.

### Matériels et Méthodes

A partir de TA périrénal de fœtus charolais (à 210 ou 260 jours de gestation), des préadipocytes ont été isolés par une digestion enzymatique à la collagénase (type II et type XI, 3:1, V:V) et des centrifugations et filtrations successives, selon une adaptation de la méthode de Gerfault et al. (2000). Des myoblastes et fibroblastes ont été isolés à partir de Longissimus thoracis des mêmes fœtus (Picard et al., 1998, Cassar-Malek et al., 1999). Les préadipocytes ont proliféré pendant 96 heures en présence de DMEM, supplémenté avec 5% de SVF, 2 M d'acétate de sodium, 100 nM d'hydrocortisone, 2.6 nM d'insuline, 50 µg/ml de gentamycine. La différenciation des préadipocytes en adipocytes a été induite par leur incubation dans du DMEM/F12 (50:50, V:V), supplémenté avec 2 M d'acétate de sodium, 10 μg/ml d'apotransferrine, 100 nM d'hydrocortisone, 50 µg/ml de gentamycine, et des concentrations croissantes en insuline (9 à 200 nM), triiodothyronine (0.2 à 2 nM) et rosiglitazone (0.01 à 10 µM) afin de déterminer les concentrations optimales. La différenciation adipocytaire a été analysée par le suivi en microscopie de l'accumulation des lipides et le comptage du pourcentage de différenciation (% de cellules différenciées versus non différenciées) après leur fixation et coloration à l'huile rouge O, ainsi que par l'analyse de l'expression de gènes caractéristiques de l'adipocyte mature (Bonnet et al., 2007). La différenciation des myoblastes a été analysée par la mesure de l'indice de fusion (% de noyaux incorporés dans les myotubes), de la surface des myotubes et de l'expression des gènes de marqueurs myogéniques (Cassar-Malek et al., 1999). Trois stratégies ont été utilisées pour étudier les interactions de type paracrine et/ou physiques entre les cellules: (a) culture d'un type cellulaire dans les milieux conditionnés par les autres types cellulaires ; (b) culture en bi-couche de deux types cellulaires, (c) incubation des adipocytes différenciés pendant 72 heures en présence d'un extrait protéique préparé à partir d'un échantillon de Longissimus thoracis cisaillé.

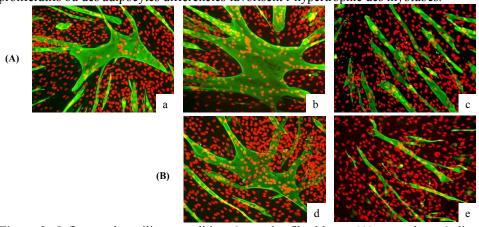
### Résultats et discussion



**Figure 1**: Choix des conditions de culture primaire d'adipocytes bovins. Coloration des lipides à l'huile rouge dans des cellules en prolifération (A) et après 6 jours de différenciation (B) dans deux conditions de culture qui différent par la concentration en insuline (9 et 200 nM) et rosiglitazone (10 et 1000 nM).

Dans une première étape de ce travail, les mesures de taux d'ARNm et/ou d'activité enzymatique de marqueurs précoces ou tardifs de l'adipogenèse et des mesures histologiques ont permis de retenir les conditions optimales de cultures favorables au stockage des lipides et à un pourcentage de différenciation élevé (Figure 1B).

Une deuxième étape de l'étude a consisté à analyser les interactions entre les différents types de cellules. En présence de milieux conditionnés par les fibroblastes prolifératifs, un indice de fusion plus élevé et une hypertrophie des myotubes ont été observés (Figure 2 Ab). Dans les milieux conditionnés par les adipocytes en différenciation, bien que la fusion des myoblastes ne soit pas affectée, une augmentation de la taille des myotubes a été détectée. En revanche, les milieux conditionnés par les fibroblastes confluents ou des adipocytes prolifératifs ont favorisé la formation de myotubes plus nombreux, plus fins et plus courts (Figures 2Ac et Be). Ainsi des facteurs sécrétés par des fibroblastes confluents ou des adipocytes prolifératifs inhibent la myogenèse, alors que ceux sécrétés par des fibroblastes prolifératifs ou des adipocytes différenciés favorisent l'hypertrophie des myotubes.



**Figure 2**: Influence des milieux conditionnés par des fibroblastes (A) et par des préadipocytes (B) sur la différenciation des myoblastes. (a) milieu de culture standard des myoblastes et des fibroblastes, (b) milieu conditionné par les fibroblastes prolifératifs, (c) milieu conditionné par des fibroblastes confluents, (d) milieu de culture standard des préadipocytes, (e) milieu conditionné par des préadipocytes.

La présence de sérum dans les milieux conditionnés par des fibroblastes ou des myoblastes n'a pas permis la différenciation adipocytaire. Toutefois, la co-culture en bi-couche d'adipocytes avec des myoblastes ou des fibroblastes a induit une augmentation de la différenciation adipocytaire, probablement via des interactions cellulaires favorisant l'adhésion et la croissance des adipocytes. Ces résultats sont cohérents avec l'observation d'une augmentation de la différenciation adipocytaire en présence de cellules endothéliales, via l'adhésion de ces dernières sur les adipocytes (Aoki et al., 2003). L'incubation d'adipocytes différenciés avec un extrait protéique sécrété par le tissu musculaire, induit une augmentation du nombre de cellules non différenciées et une diminution du pourcentage de différenciation. Ceci pourrait résulter d'une reprise de la prolifération de cellules non différenciées induite par les facteurs de croissance sécrétés par le tissu musculaire lésé (cf. communication de B. Picard et al.)

### **Conclusions**

Un des aspects innovants de ce travail a été la mise au point d'une technique de culture d'adipocytes bovins et son utilisation pour conditionner des milieux et réaliser des co-cultures avec d'autres types cellulaires. Nos résultats suggèrent que des signaux paracrines et des interactions cellulaires participent aux dialogues entre les myoblastes, fibroblastes, adipocytes et pourraient jouer un rôle lors de l'élaboration des tissus déterminant le rapport masse grasse/masse maigre des animaux. Ces résultats préliminaires sont originaux puisqu'à notre connaissance il existe peu d'études sur les interactions entre ces types cellulaires. Ils suggèrent que l'utilisation de tels modèles *in vitro* permettrait de mieux comprendre les interactions métaboliques, endocrines ou paracrines qui sous-tendent ces mécanismes.

### Références bibliographiques

Aoki S., Toda S., Sakemi. T, Sugihara H., 2003. Cell Struct. Funct., 28, 55-60.

Bonnet M., Faulconnier Y., Leroux C., Jurie C., Cassar-Malek I., Bauchart D., Boulesteix P., Pethick D., Hocquette J.F., Chilliard Y., 2007. J. Anim. Sci., 85, 2882-2894.

Cassar-Malek I., Langlois N., Picard B., Geay Y., 1999. Domest. Anim. Endocrin., 17, 373-388.

Picard B., Depreux F. Geay Y., 1998. Basic Appl. Myology, 8, 197-203.

Gerfault V., Louveau I., Mourot J., Le Dividich J., 2000. J. Nutr., 130, 1179-1182.

### Remerciements

Les auteurs remercient C. Labonne, D. Bany et S. Bes pour leur assistance technique, ainsi que l'installation expérimentale de l'URH pour la production des fœtus et l'abattoir expérimental de Theix.

# VARIABILITE INDIVUELLE DES REACTIONS DE STRESS A L'ABATTAGE CHEZ LES OVINS ET LES BOVINS : CONSEQUENCES SUR LE METABOLISME *POST-MORTEM*

BOURGUET C.1\*, DEISS V.1\*, LIGOUT S.1\*, GOBERT M.2\*, BOUIX J.3, BOISSY A.1\*, DURAND D.2\*, TERLOUW C.1\*

<sup>1</sup>Equipe Adaptation et Comportements Sociaux, <sup>2</sup> Equipe Nutrition Et Métabolisme \*UR 1213 Herbivores INRA de Theix, 63122 St-Genès-Champanelle, France <sup>3</sup> INRA SAGA, BP 52627, 31326 Castanet-Tolosan, France

### Introduction

Les conditions d'abattage peuvent induire un état de stress ou de mal-être chez l'animal, dû aux contraintes physiques (jeûne, fatigue, douleurs) et psychologiques (perturbations sociales, environnements non familiers, contact avec l'Homme). Il est également bien connu que les réactions de stress à l'abattage peuvent influencer le métabolisme musculaire *post-mortem*. Chez les ovins et les bovins, le problème majeur est l'augmentation du pH ultime, suite à de mauvaises conditions de transport ou d'attente (Tarrant 1989, Apple et al. 1995). Cet effet s'explique pour une grande partie par la diminution des réserves en glycogène du muscle, en conséquence des efforts physiques et des changements hormonaux (Fernandez et al. 1994, Terlouw et Rybarczyk 2008).

Les réactions de stress à l'abattage varient considérablement entre individus, comme cela a été montré par exemple chez les veaux (Lensink et al. 2001) et les porcs (Hemsworth et al. 2002, Terlouw et Rybarczyk 2008). Ces réactions sont au moins en partie liées à un profil émotionnel : la réactivité à l'Homme, évaluée au cours de l'élevage, est corrélée à la vitesse de la diminution du pH *post-mortem* dans les muscles (Lensink et al. 2001, Terlouw et Rybarczyk 2008). Ces résultats suggèrent que les animaux plus réactifs à l'Homme ont une activité métabolique plus élevée au moment de l'abattage. Ils indiquent également que la présence de l'Homme à l'abattage est une source de stress. Il serait donc possible d'identifier, au cours de l'élevage, les animaux susceptibles d'avoir une plus forte réactivité à l'abattage.

L'objectif de la présente étude est de mesurer chez l'ovin et chez le bovin adulte si les différences de réactivité comportementale et physiologique entre individus, déterminées au cours de l'élevage, sont corrélées avec leurs réactions de stress à l'abattage.

### Matériel et Méthodes

235 agneaux (n = 114 2006, n = 121 en 2007) de race Romane (83 ± 4 jours) et 31 vaches de réforme de race Normande (âgées de 5 ans) ont été soumis, au cours de la période d'engraissement à des tests de réactivité. Chez les ovins, deux tests ont été effectués. Le premier test visait à étudier les réactions à la nouveauté, à l'isolement social (avec ou sans contact visuel avec des congénères), et à l'interposition de l'expérimentateur entre l'animal et ses congénères. Le profil réactionnel (attraction sociale, vigilance, réactivité à l'Homme immobile) a été analysé. Le deuxième test visait à étudier la réactivité de l'animal à l'approche de l'Homme, en observant sa distance de fuite et sa vigilance. Les bovins ont été soumis à un test de réactivité à l'Homme d'abord immobile puis actif en cherchant à maintenir l'animal dans une zone de 4m² et à le caresser. Des mesures physiologiques et comportementales (fréquence cardiaque, acceptation des caresses et du maintien) ont été utilisées.

Les agneaux ont été abattus (poids vif 41 ± 3 kg) dans un abattoir commercial distant de 30 kms et les vaches ont été abattues (poids vif 800 kg) dans un abattoir expérimental à proximité du lieu d'engraissement. Leurs réponses physiologiques *ante-mortem* (taux de cortisol dans le sang de la saignée pour les ovins et les bovins et fréquence cardiaque pour les bovins, comme indicateurs de stress) et métaboliques *post-mortem* (pH et température du *Longissimus thoracis* (LT) pour les ovins et des muscles LT et *Semitendinosus* (ST) pour les bovins, mesurés 30 min, 3h et 24 h après la saignée) ont été évaluées.

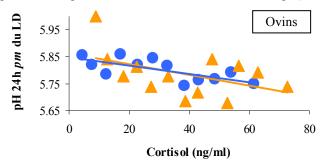
### Résultats et Discussion

Ovin. Quel que soit le test de réactivité, les individus variaient dans leurs réactions comportementales. Toutefois, comme dans les travaux de Boissy *et al.* (2005), les animaux montraient une cohérence dans leurs réactions comportementales (Pearson, p<0,0001).

A la saignée, les taux de cortisol plasmatiques étaient très variables (2,3 à 79,0 ng/ml) et faiblement corrélés avec le pH ultime (r=-0,17; p<0,05). Les corrélations entre la réactivité comportementale en élevage et le cortisol à l'abattage ou les mesures *post-mortem* étaient également faibles, ce qui s'explique par une forte variabilité entre individus et entre jours d'abattage. Pour s'affranchir de cet effet, les moyennes des taux de cortisol, des pH *post-mortem* et des variables de réactivité ont été calculées par classe définie selon le taux de cortisol, indicateur de stress *ante-mortem*. Les moyennes des taux de cortisol étaient corrélées avec celles de la vigilance en 2006 (r=-0,76; p=0,004) et de l'attraction sociale en 2007 (r=0,68; p=0,01). L'attraction sociale et la vigilance tendaient à être corrélées en 2007 (r=-0,50;

p=0,08). Les moyennes des taux de cortisol et des pH 24h *post-mortem* étaient corrélés en 2006 et en 2007 (Fig.1). L'abaissement du pH ultime chez les ovins apparemment plus stressés est inattendu (Tarrant 1989, Apple et al. 1995). Il est possible que les effets hyperglycémiants du cortisol aient permis une reconstitution des réserves musculaires en glycogène, inversant l'effet sur le pH ultime (Terlouw et al. 2006).

Bovin. Les résultats ont montré une grande variabilité interindividuelle dans la réactivité à l'Homme. Près de 38% des vaches ont accepté une série de caresses dès le premier essai, alors que pour d'autres (14% des vaches) au moins 5 essais étaient nécessaires. De même, les fréquences cardiaques au cours du test variaient de 90,5 ± 0,7 à 122,7 ± 12,9 battements par minute. Le niveau de caresses accepté par les individus et leur fréquence cardiaque étaient corrélés au pH 3h post-mortem dans le ST (r=0,50; p=0,03 et r=-0,69; p=0,004, respectivement) (Fig.2). Enfin, la fréquence cardiaque au cours du test de réactivité était corrélée à celle enregistrée pendant le transport vers l'abattoir (r=0,71; p=0,01). Ainsi, les individus plus réactifs à l'Homme, étaient plus réactifs pendant le transport et avaient un pH post-mortem 3h après la saignée plus faible. Un stress avant l'abattage peut accélérer le métabolisme énergétique du muscle, conduisant à une chute du pH plus rapide (Bendall 1973). Cela suggère donc que, comme chez le porc, la présence de l'Homme à l'abattage est une source de stress significative pour les bovins et que des tests réalisés en élevage peuvent permettre de prédire la réaction des bovins à l'abattage (Hemsworth et al. 2002, Terlouw et Rybarczyk 2008).



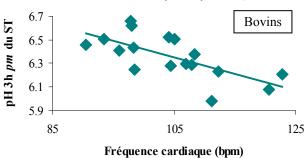


Fig 1: Corrélation entre le taux de cortisol dans le sang de saignée et le pH à 24h *post-mortem* du LT chez les ovins. Pearson: (•) en 2006, r = -0,71; p = 0,009
(•) en 2007, r = -0,48; p= 0,09.

**Fig 2**: Corrélation entre la fréquence cardiaque moyenne des vaches, relevée lors du test de réactivité à l'Homme et le pH à 3h *post-mortem* du ST chez les bovins. Pearson, r=-0,69; p=0,004.

### Conclusions

Les ovins et les bovins montrent une bonne cohérence intra-individuelle dans les réactions comportementales à différentes situations. Ces profils réactionnels prédisent les réactions des animaux à l'abattage. De plus, ces résultats montrent que pour étudier les questions de bien-être animal à l'abattage, il est nécessaire de tenir compte des différences entre les individus dans leur perception du stress. Enfin, les résultats soulignent l'influence des réactions au stress sur l'évolution du pH *post-mortem*. Toutefois, chez l'ovin, abattu industriellement, l'impact sur les mesures *post-mortem* était moindre.

### Références

Apple J.K., Dikemen M.E., Minton J.E., McMurphy R.M., Fedde M.R., Leith D.E., Unruh J.A., 1995. J. Anim. Sci. 73, 2295-2307.

Bendall J.R., 1973. In structure and function of Muscle. (Ed G.H Bourne) Acad. Press, NY.

Boissy A., Bouix J., Orgeur P., Poindron P., Bibé B., Le Neindre P., 2005. Genet. Sel. Evol. 37, 381-401.

Fernandez X., Meunier-Salaun M.-C., Mormède P., 1994. Physiol. Behav. 56, 841-847.

Hemsworth P.H., Barnett J.L., Hofmeyr?, Coleman G.J., Dowling S., Boyce J., 2002. Aust. J. Agr. Res.?

Lensink J., Fernandez X., Cozzi G., Florand L., Veissier I., 2001. J. Anim. Sci. 79, 642-652.

Terlouw E.M.C., Rybarzcyk P., 2008. Meat Sci.. sous presse.

Terlouw E.M.C., Astruc T., Berne A., Haye E., Laville E., Lhoutellier-Santé V., Monin G., Morzel M., Sayd T., Hamelin M., Vernin P., 2006. VPC 25, 43-53

Tarrant P.V., 1989. Appl. Anim. Behav. 28, 153-170.

### Remerciements

Nous remercions H. Chandeze, S. Andanson, C. Ravel et E. Delval de l'équipe Adaptation et Comportements Sociaux de l'INRA de Theix pour leur aide dans l'enregistrement et l'analyse des données, ainsi que l'équipe de P. Faure de l'Installation Expérimentale, l'équipe de R. Jaillier de l'Abattoir Expérimental et l'équipe de P. Autran du Domaine Expérimental de l'INRA. L'étude sur les bovins à été réalisée dans le cadre du programme ANR LIPIVIMUS (coordination : D. Bauchart).

# RENDEMENTS DE DECOUPE ET QUALITE DE LA CHAIR CHEZ TROIS ESPECES DE SALMONIDES : LA TRUITE ARC-EN-CIEL, LA TRUITE FARIO ET LE SAUMON ATLANTIQUE

BUGEON J.<sup>1</sup>, LEFEVRE F.<sup>1</sup>, DAVENEL A<sup>2</sup>. HAFFRAY P.<sup>3</sup>

1: INRA, UR 1037, SCRIBE, IFR 140, 35042 Rennes cedex, France

2: CEMAGREF, TERE, PRISM, 35044 Rennes cedex, France

3: SYSAAF section aquacole, 35042 Rennes cedex, France

### Introduction

Le développement de la pisciculture repose sur l'amélioration des performances d'élevage et la maîtrise de la qualité des produits afin de répondre aux préoccupations des transformateurs (qualités technologiques) et des consommateurs (qualités sanitaire, nutritionnelle et sensorielle). En réponse à l'attente des consommateurs pour des produits à caractère festif ou faciles à préparer, la filière salmonicole française s'est diversifiée avec la production de truites destinées à la vente en filets (800 g – 1,5 kg) et de grandes truites destinées au fumage (3-4 kg). Au delà des performances d'élevage, l'amélioration des rendements de découpe (rendement éviscération, filetage) et la maîtrise de la qualité de la chair est donc devenue un enjeu important pour la filière trutticole. L'amélioration de ces critères de qualité nécessite d'en connaître les déterminismes, ce qui implique l'acquisition de connaissances sur le lien entre morphologie des poissons, caractéristiques du tissu musculaire, et qualité de la chair. L'objectif de ce travail était de comparer trois espèces de salmonidés, le saumon Atlantique (Sau), la truite arc-en-ciel (Tac) et la truite fario (Far) pour mieux comprendre l'origine des différences de rendements de découpe et de qualité de la chair entre ces espèces.

### Matériels et Méthodes

Vingt saumons Atlantiques (*Salmo salar*) et 20 truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), provenant de fermes privées, et 20 truites fario (*Salmo trutta*), prélevées à la Pisciculture Expérimentale INRA des Monts d'Arrée, ont été analysés. Les poissons ont été pesés, mesurés au pied à coulisse (morphologie externe) et avec un échographe (paroi musculaire interne). Les poissons ont ensuite été éviscérés et filetés. Une demi-darne a été prélevée au niveau de la nageoire dorsale ainsi que des blocs de muscle pour l'analyse histologique. La teneur en lipides de la chair a été estimée par un dosage RMN au niveau de la « norwegian quality cut » (Toussaint *et al.*, 2002). La résistance mécanique du filet cru (mesurée à 48h *post mortem*) et cuit au four micro-ondes a été réalisée, sur deux morceaux de filet de 6,4 x 6,4 cm prélevés en zones antérieure et caudale, à l'aide d'une presse de Kramer montée sur un Instron<sup>®</sup>. Du fait d'une résistance mécanique de la chair crue des saumons, supérieure à la capacité du capteur, seule la force à 100% de déformation de l'échantillon a été analysée. Pour l'analyse histologique, l'échantillon de muscle a été fixé au Carnoy, déshydraté puis inclu dans la paraffine. Des coupes histologiques ont été colorées au Rouge Sirius et Fast Green à 0,1% dans une solution saturée d'acide picrique et les images observées au microscope ont été numérisées. Des images macroscopiques de demi-darnes ont été numérisées à l'aide d'un système d'acquisition vidéo. Ces images ont été analysées avec le logiciel Visilog 6.5<sup>®</sup> pour Windows<sup>®</sup>, permettant pour les coupes histologiques de mesurer la surface de 200 à 300 fibres musculaires et pour les demi-darnes de mesurer la surface des tissus musculaires, conjonctifs et adipeux.

### Résultats et discussion

Les saumons présentaient un poids vif supérieur aux truites arc-en-ciel, elles-mêmes plus grosses que les truites fario. Concernant la morphologie, le saumon présentait un format général très élancé alors que la truite fario était plus « trapue » avec le coefficient de condition le plus élevé des 3 espèces. La truite fario et le saumon présentaient des sections corporelles (hauteur/épaisseur) plus rondes que la truite arc-en-ciel qui est plus « ovale » (Figure 1). L'épaisseur de la paroi abdominale, mesurée en échographie, était supérieure chez la truite fario (3,1% de la longueur standard), suivi par le saumon (2,5%) et la truite arc-en-ciel (2,1%). L'analyse des images de demi-darne a montré que la truite arc-en-ciel présentait des surfaces de tissus adipeux (dorsaux et ventraux) supérieures au saumon et à la truite fario et par conséquent une surface musculaire inférieure. La truite fario et le saumon présentaient des rendements en filet supérieurs à la truite arc-en-ciel (+24% sur le filet paré pelé entre Tac et Sau), ces différences de rendement sont liées d'une part à un meilleur rendement à l'éviscération pour le saumon et la truite fario et d'autre part à des pertes au parage plus faibles (Tableau 1). Le développement supérieure des tissus adipeux périphériques observé sur les demi-darnes et des épaisseurs de parois musculaires inférieures contribuent à l'augmentation des pertes au parage et à la moindre quantité de muscle observée chez la Tac.

Les trois espèces présentaient des distributions de fibres musculaires distinctes. Le saumon possède des fibres musculaires de diamètre moyen inférieur à la truite fario et à la truite arc-en-ciel, mais la truite fario présente plus de petites fibres que les deux autres espèces. Le saumon présentait également un nombre total de fibres musculaires supérieure aux deux autres espèces, ce qui témoigne d'un phénomène d'hyperplasie plus important chez cette espèce. La truite fario et le saumon avaient une teneur en lipides du muscle supérieure à la truite arc-en-ciel. La résistance

mécanique de la chair crue était supérieure chez le saumon et la truite arc-en-ciel par rapport à la truite fario. Pour la chair cuite le saumon présentait une chair plus ferme par rapport aux deux autres espèces mais uniquement pour la partie caudale du filet. Ces différences de texture peuvent être reliées à la structure du muscle et sa composition : la forte densité de fibres chez le saumon participerait à sa fermeté tandis que chez la truite fario la présence de grosses fibres musculaires peut expliquer sa moindre résistance mécanique (Bugeon *et al.*, 2003). Pour le saumon, la teneur en lipides supérieure ne semble pas préjudiciable à la fermeté du produit cuit en partie caudale (zone peu grasse) mais peut expliquer l'absence de différence de résistance mécanique entre les trois espèces dans la zone antérieure du filet (zone plus grasse).

**Tableau 1**: Rendements de découpe et paramètres de qualité de la chair chez la truite arc-en-ciel (Tac), la truite fario (Far) et le saumon Atlantique (Sau), moyenne±écart-type, n=20, des lettres différentes indiquent une différence

significative	(p<0.05)	entre les	trois	espèces.	
---------------	----------	-----------	-------	----------	--

	Variables	Tac	Far	Sau
Poids	Poids vif (g)	2327±227 b	2076±488 c	2641±318 a
Conformation	Coefficient de condition K (g/mm³)	1,48±0,08 b	1,61±0,13 a	1,31±0,07 c
	Rendement carcasse (%)	85±2,3 c	91,9±0,9 a	90,9±0,8 b
Rendement de découpe	Rendement filet paré (%)	38,6±3 c	55±1,8 a	50,6±2,2 b
	Rendement parage(%)	73,6±2,6 c	86,3±1,5 a	83,5±1,5 b
Composition	Teneur en lipides chair (% poids frais)	7,1±1 b	9,3±1,3 a	10±1,2 a
	Diamètre moyen fibres muscle blanc (μm)	93,5±7,3 b	95±9,3 b	77,8±5,8 a
Structure du muscle	Proportion de petites fibres <20μm (%)	0,16±0,2 b	1,2±0,8 a	0,16±0,17 b
	Nombre total de fibre/darne (en milliers)	226±46 b	253±59 b	458±62 a
	Surface musculaire (%)	57,7±2,6 b	67,2±1,4 a	67,4±2,7 a
Surfaces tissulaires	Surface des myoseptes (%)	16,2±1,7 a	13,6±1,4 b	13±2,8 b
	Surface tissus adipeux périphériques (%)	26,1±2,5 a	19,3±1,6 b	19,5±1,6 b
	Force 100% def antérieure crue (N)	641±73 b	460±53 c	823±80 a
Résistance mécanique	Force 100% def caudale crue (N)	908±194 b	344±77 c	1100±136 a
	Force 100% def antérieure cuit (N)	1065±154	1159±171	1176±175
	Force 100% def caudale cuit (N)	422±76 b	389±73 c	792±122 a

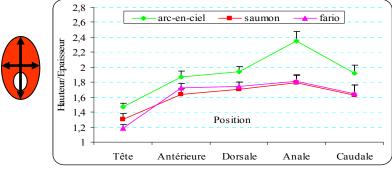


Figure 1 : Gradient antéropostérieur du rapport hauteur / épaisseur du corps chez trois espèces de salmonidés: la truite arcen-ciel, la truite fario et le saumon Atlantique.

# Conclusions

Ce modèle de comparaison interspécifique a permis, grâce aux différences de rendement de découpe obtenues, de mettre en évidence des grandeurs morphologiques et des développements tissulaires différentiels associés à des performances au filetage différentes. En terme de qualité, la chair du saumon bien que plus grasse présente une forte densité de fibres musculaires, par rapport aux truites, ce qui est associée à une texture plus ferme. L'amélioration de la qualité des produits pour une espèce comme la truite arc-en-ciel est envisagée via notamment la sélection génétique, grâce aux critères phénotypiques identifiés comme déterminant. La nature des réponses dépendra de l'héritabilité de ces caractères et de leurs corrélations génétiques.

### Références bibliographiques

Toussaint C. A., Médale F., Davenel A., Fauconneau B., Haffray P., Akoka S., 2002. *J.Sci.Food.Agric.* 82, 173-178. Bugeon J., Lefevre F., Fauconneau B., 2003. *Aquac.Research* 34 (14):1287-1295.

### Remerciements

Les auteurs remercient Mireille Cambert du CEMAGREF, Camille Knockaert de l'IFREMER, Laurent labbé, Lionel Goardon, Vincent Gayet, Thierry Kernéis, Gilles Paboeuf et Ayhan Uyanik de l'INRA pour leur aide dans les prélèvements et l'analyse des échantillons. Ce travail a été financé par l'OFIMER, le CIPA et l'IFOP.

# PRODUCTION DE VIANDE EN MONTAGNE ET COMPOSITION EN ACIDES GRAS DU MUSCLE *LONGISSIMUS DORSI* CHEZ LE BOVIN DE LA RACE D'HERENS. PERSPECTIVES DE TRACABILITE.

#### **DUFEY P.-A., COLLOMB M.**

#### Station de recherche Agroscope Liebefeld Posieux ALP 1726 Posieux, Suisse

#### Introduction

La qualité de la viande d'animaux issus de systèmes de production extensifs dans les régions de montagne est peu connue. L'alimentation à base d'herbe tient une place particulière, d'une part, parce qu'elle constitue l'un des liens au terroir d'origine et d'autre part, parce qu'elle pourrait conférer à la viande des caractéristiques particulières sur les plans nutritionnel et sensoriel, notamment par le biais de la composition lipidique. L'herbe a des effets bénéfiques en augmentant les teneurs dans la viande des acides gras oméga-3 (n-3) et des acides linoléique conjugués (CLA) (Scollan 2006). Le rapport n-6/n3 est également amélioré. Ces teneurs peuvent être influencées par la biohydrogénation lors de la digestion ruminale et pourraient être supérieures lors d'une consommation d'herbe de montagne comme des observations sur le lait l'ont montré, l'hypothèse étant que la flore alpine pouvait réduire la biohydrogénation (Collomb 2004; Chilliard 2007). Afin de déterminer les caractéristiques de viandes produites en montagne, deux exploitations de même altitude mais de régions très différentes, situées l'une dans les Alpes valaisannes et l'autre dans le Jura suisse, ont été comparées à une exploitation de plaine pratiquant un engraissement intensif. Seuls les résultats de la teneur en lipides totaux et de la composition en acides gras seront présentés ici.

#### Matériel et Méthodes

Au total 43 bœufs de la race d'Hérens, une race rustique du Valais (Suisse), ont été engraissés dans une stabulation libre en plaine à 380 m d'altitude (Plaine) et à 1200 m d'altitude dans deux régions de montagne différentes, dans les Alpes valaisannes (MontVS) et au Jura (MontJU). Les animaux du groupe Plaine ont reçu une alimentation à base d'ensilages de maïs et de luzerne sans accès à la pâture. Les animaux des groupes MontVS et MontJU, après un hivernage sur site, ont passé en moyenne respectivement 100 et 140 jours sur les pâturages d'altitude avant l'abattage. Les âges moyens des bœufs à l'abattage étaient de 18 (Plaine), 20 (MontVS) et 21 mois (MontJU). Les abattages se sont déroulés dans un abattoir industriel après avoir standardisé la durée et l'intensité du transport. Les échantillons pour les analyses des acides gras ont été prélevés dans le muscle *longissimus* au niveau des 9<sup>e</sup> et 10<sup>e</sup> côtes (*thoracis=LT*) et lyophilisés. Après extraction par une solution de chlorure de méthylène / méthanol 2/1 (V/V), les glycérides ont été saponifiés à l'aide d'une solution de NaOH / méthanol (0.5 M) et les acides gras formés estérifiés en méthylesters en utilisant un excès de trifluorure de bore comme catalyseur. La composition en acides gras a été analysée par chromatographie gaz / liquide avec un détecteur de type FID (Collomb et Bühler, 2000). Les acides gras ont été séparés sur une colonne capillaire CP-Sil 88 et quantifiés en utilisant l'acide tridécanoïque comme standard interne. Les isomères des CLA ont été analysés selon Collomb (2004) par Ag+-HPLC, appareil équipé d'un détecteur à photodiodes (234 nm) et de trois colonnes en série ChromSpher Lipid. Le solvant était l'hexane (qualité UV) additionné de 0.1% d'acétonitrile et 0.5% de diéthyléther (flux : 1 mL/min). Le traitement statistique des résultats a été réalisé par analyse de variance et comparaisons multiples selon le test de Newman-Keuls, par scatter-plot et par analyse factorielle discriminante (NCSS, 2000).

## Résultats et discussion

**Tableau 1.** Effets des systèmes d'élevage (SE) sur la teneur en lipides totaux et la composition en acides gras du muscle LT (expression en % de la somme des AG identifiés)

Système d'élevage	Plaine	MontVS	MontJU	Effet du SE (p)
Lipides totaux (g/100g 1	muscle) 1.75a	1.95a	0.90b	< 0.001
C18:2(n-6)	5.9b	6.7b	8.3a	< 0.01
C18:3(n-3)	0.4c	1.3b	3.5a	< 0.001
C20:5(n-3)EPA	0.2b	0.4b	1.5a	< 0.001
C22:5(n-3)DPA	0.5b	0.6b	1.5a	< 0.001
C22:5(n-3)DHA	0.06b	0.06b	0.14a	< 0.001
ΣAGS	45.7	47.2	45.4	NS
∑ AGMI	43.4a	40.7b	35.3c	< 0.001
$\sum$ AGPI	10.9b	12.2b	19.4a	< 0.001
n-6	9.7b	9.5ab	12.0a	< 0.05
n-3	1.4c	2.6b	7.1a	< 0.001
n-6/n-3	6.8a	3.7b	1.7c	< 0.001

AGS : acides gras saturés ; AGMI : acides gras monoinsaturés ; AGPI : acides gras polyinsaturés. NS : non significatif

A teneur en lipides semblables (Plaine – MontVS), l'alimentation à base d'herbe de montagne augmente principalement la proportion de C18:3n-3 d'un facteur 3, ainsi que la part totale de n-3 par rapport à une alimentation à base principalement d'ensilages de maïs (tableau 1). La proportion de n-6 n'étant pas modifié, le rapport n-6/n-3 est amélioré d'autant. Les différences avec les animaux MontJU sont amplifiées en raison d'une teneur en lipides totaux réduite, la contribution des lipides membranaires étant proportionnellement plus importantes. La proportion d'acides gras polyinsaturés (AGPI) est proche de 20% compensée par une réduction d'acides gras monoinsaturés (AGMI) et non par une diminution des acides gras saturés (AGS) comme dans le lait (Chilliard 2007).

La répartition des isomères *trans* du C18:1 sont favorables aux animaux MontVS et MontJU, puisque les proportions des isomères problématiques *trans*-9 et *trans*-10 sont plus faibles et celle de l'isomère *trans*-11, ou acide *trans* vaccénique (TVA) précurseur du 9c11t-CLA, plus importante par rapport à ceux de Plaine (figure 1). Comme indiqué ci-dessus, la comparaison entre différents régimes alimentaires est souvent problématique en raison de l'interaction avec la quantité de lipides totaux. Chaque acide gras (en mg par 100g de muscle) a été mis en relation avec la quantité de lipides totaux (scatter plot). Cette approche graphique a permis de mettre en évidence, pour certains d'entre eux, une relation spécifique aux différents régimes alimentaires, les pentes pouvant être très différentes même entre deux régimes à base d'herbe comme pour le CLA 11t13c (figure 2a).

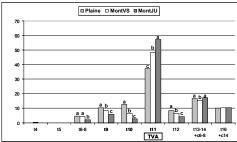


Figure 1. Répartition des isomères *trans* C18-1 en fonction du système d'élevage, maïs/luzerne (Plaine) et herbes de montagne (MontVS / MontJU).

Par ailleurs, l'acide C18 :3 n-6 semble être un indicateur de la consommation d'herbe, puisque cet acide gras n'a pas été détecté dans le muscle des animaux Plaine (figure 2b). Comme illustré à la figure 2c, une analyse factorielle discriminante a permis de discriminer à l'aide de quelques acides gras chaque animal en fonction de son appartenance à un groupe donné avec une réattribution correcte à 100%.

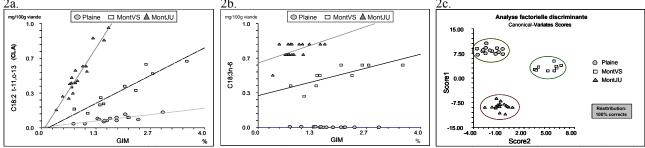


Figure 2. Présence des acides gras 11t13c-C18:2 (CLA) (2a) et C18:3 n-6 (2b) en fonction de la quantité de graisse intramusculaire (GIM) et du système d'élevage. (2c) Analyse factorielle discriminante en fonction du système d'élevage. Régime alimentaire : maïs/luzerne (Plaine) et herbes de montagne des Alpes valaisannes (MontVS) et du Jura (MontJU).

#### Conclusions

Les augmentations dans le muscle LT de certaines concentrations en acides gras sont linéaires en fonction de la quantité de lipides totaux mais leur pente diffère selon le régime alimentaire.

Ces observations suggéreraient la possibilité d'utiliser un certain nombre d'acides gras comme indicateur de consommation d'herbe et comme moyen de traçabilité en relation avec un lieu de production. D'autres analyses seront nécessaires et sont en cours pour valider cette perspective.

## Références bibliographiques

Chilliard Y., Glasser F., Enjalbert F., Ferlay A., Bocquier F., Schmidely Ph., 2007. Renc. Rech. Ruminants, 14, 321-328. Collomb M., Bühler T., 2000. Trav. Chim. Alim. Hyg., 91, 306-332.

Collomb M., Sieber R., Bütikofer U., 2004. Lipids, 39, 355-364.

Scollan N., Hocquette J.F., Nuernberg K., Dannenberger D., Richardson I., Moloney A., 2006. Meat Science, 74, 17-33.

## Vitesse de chute du pH et profils biochimiques et enzymatiques du muscle pectoral de dinde

# EADMUSIK S.<sup>1</sup>, MOLETTE C.<sup>1</sup>, EL RAMMOUZ R.<sup>1</sup>, HOCQUETTE J.F.<sup>2</sup>, REMIGNON H.<sup>1</sup>, FERNANDEZ X.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR 1289 INRA/ INP-ENSAT/ ENVT TANDEM "Tissus Animaux, Nutrition, Digestion, Ecosystème, Métabolisme" ENSAT, Avenue de l'Agrobiopole, 31326 Castanet – Tolosan Cedex, <sup>2</sup> URH, UR1213, INRA Clermont Ferrand Theix 63122 Saint Genès Champanelle

#### Introduction

Les viandes PSE (Pale, Soft, Exudative) présentent une couleur pâle, une texture molle avant cuisson et un faible pouvoir de rétention d'eau (Pietrzak et al., 1997). Ces viandes sont essentiellement retrouvées chez le porc et les volailles. Chez le porc, une mutation sur le gène codant pour le récepteur à la ryanodine explique une part importante de l'apparition des viandes PSE (Fujii et al., 1991). Chez les volailles, jusqu'à présent, aucune donnée n'a permis d'expliquer l'apparition de ces viandes, à l'exception des effets du stress *ante mortem*. De plus, les études ont porté soit sur l'identification de facteurs susceptibles de conduire à ces viandes (Mc Kee et Sams, 1997) soit sur la dénaturation des protéines musculaires dans ce type de produit (Pietrzak et al., 1997). A notre connaissance, il n'existe pas d'étude des caractéristiques des enzymes de la glycolyse. L'objectif de notre travail est d'une part d'étudier les caractéristiques biochimiques de quelques enzymes de la glycolyse et d'autre part, de réaliser une caractérisation biochimique du muscle de dinde présentant des différences de vitesse de chute du pH.

#### Matériels et méthodes

Dans un abattoir commercial, au sein d'un même lot de dindes mâles BUT9, 40 muscles pectoraux (*Pectoralis major*) ont été sélectionnés sur la valeur de leur pH à 20 min *post mortem* : 20 muscles présentaient un bas pH<sub>20min</sub> (Glycolyse rapide : GR, 5,80  $\pm$  0,07 ; moyenne  $\pm$  écart-type) et 20 un pH<sub>20min</sub> normal (Glycolyse normale : GN, 6,21 $\pm$ 0,01). Le pH ultime (pHu) a également été mesuré à 24h *post mortem*.

Des échantillons de muscles ont été prélevés à 20 min post mortem et immédiatement congelés.

Les activités enzymatiques spécifiques d'enzymes du métabolisme glycolytique (aldolase A, GAPDH (glycéraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase), et PFK (phosphofructokinase)) et du métabolisme oxydatif (COX (cytochrome c oxydase)) ont été évaluées, sur les échantillons prélevés à 20 min *post mortem*, d'après les méthodes décrites par Koeck et al. (2004), Crow et al. (1979), Beutler (1971) et Conrad et Smith (1956) respectivement.

Le glycogène et l'acide lactique ont été déterminés par des méthodes enzymatiques, après hydrolyse du glycogène par l'amyloglucosidase (Dalrymple & Hamm, 1973, pour le glucose et le glucose-6-phosphate ; Bergmeyer, 1974, pour le lactate). Le potentiel glycolytique musculaire (somme de la teneur en glycogène et des composés issus de sa dégradation) est calculé selon Monin et Sellier (1985) : PG = 2 ([glycogène] + [glucose] + [glucose-6-P]) + [lactate] (exprimé en µmol d'équivalent lactate / g).

#### Résultats et discussion

Le p $H_{20min}$  du groupe GR est inférieur de 0,5 unité que celui de groupe GN. Par contre, le pHu n'est pas différent entre les 2 groupes (5,80+0,08 et 5,77+0,09 pour GR et GN, respectivement, P >0,05).

La figure 1 présente les résultats des mesures d'activités spécifiques des 4 enzymes étudiées. Nous mettons en évidence des différences significatives entre les deux groupes pour les 4 enzymes. Les activités spécifiques sont toujours supérieures dans le muscle des animaux du groupe GN par rapport à ceux du groupe GR. L'activité spécifique de la PFK est diminuée d'un facteur 7 entre le groupe GN et le groupe GR. Ces résultats sont contraires à ce que nous attendions. En effet, compte tenu de l'accélération de la chute du pH, nous attendions une augmentation de l'activité des enzymes de la glycolyse. Nous pouvons penser que les enzymes ont été dénaturées par les conditions de pH *post mortem* très précoces du muscle ainsi que par la combinaison bas pH – température élevée (Pietrzak et al., 1997). Chez le porc, Sayre et al. (1963) ont mis en évidence que les activités de la PFK et de la phosphorylase ne semblaient pas être en relation avec la vitesse de chute du pH.

Les caractéristiques biochimiques du muscle pectoral ont également été évaluées (tableau 1). Nous mettons en évidence une teneur plus faible en glycogène chez les animaux du groupe GR par rapport à ceux du groupe GN. Au contraire, la teneur en lactate est supérieure chez les animaux du groupe GR. Ce résultat est cohérent avec les valeurs de pH<sub>20min</sub>. Par ailleurs, la teneur en glucose est plus élevée chez les dindes du groupe GR. Peu d'études rapportent des résultats des caractéristiques biochimiques de viandes PSE chez les volailles. Pietrzak et al. (1997) rapportent des concentrations en lactate d'environ 58 µmol/g pour muscles de dindes à glycolyse normale et 94 µmol/g pour des muscles de dindes à glycolyse rapide à 20 min *post mortem*.

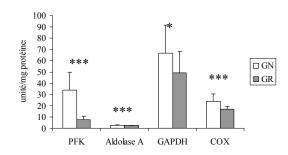


Figure 1. Effet de la vitesse de chute du pH sur les activités enzymatiques spécifiques de la PFK l'Aldolase A, la GAPDH et la COX. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type (n=20). \* p < 0.05 ; \*\*\* P < 0.001

Tableau 1. Effet de la vitesse de chute du pH sur les concentrations en métabolites de la glycolyse et potentiel glycolytique des muscles prélevés à 20 min *post mortem*. Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type (n=20).

	Glycogène µmol/g	Glucose µmol/g	Glucose-6- phosphate µmol/g	Lactacte µmol/g	Potentiel glycolytique µmol lactate/g
GR	5,5 <u>+</u> 3,7	2,5 ± 0,5	0,2 <u>+</u> 0,2	99,6 <u>+</u> 7,7	116,1 <u>+</u> 9,6
GN	14,1 <u>+</u> 5,0	1,6 <u>+</u> 0,4	$0,2 \pm 0,2$	78,1 <u>+</u> 6,0	109,8 <u>+</u> 10,3
signification	***	***	NS	***	NS

NS, non significatif: p > 0.05; \*\*\*: P < 0.001

#### Conclusions

Nos résultats rapportent les mesures d'activités de quelques enzymes de la glycolyse et une enzyme du métabolisme oxydatif ainsi que les caractéristiques biochimique du muscle. Ces dernières sont en accord avec ce que nous observons au niveau de la chute du pH *post mortem*. En revanche, les activités enzymatiques sont plus faibles chez les animaux présentant une glycolyse accélérée. Afin de confirmer ce résultat, une étude métabolomique sera réalisée pour déterminer la concentration en chaque intermédiaire de la glycolyse. Cette étude permettra d'affiner la compréhension des mécanismes de la glycolyse *post mortem*.

#### Références bibliographiques

Pietrzak M., Greaser M.L., Sosnicki A.A., 1997. J. Anim. Sci., 75, 2106-2116.

Fujii, J., Otsu K., Zorzato F., de Leon S., Khanna V.K., Weiler J.E., O'Brien P.J., Mac Lennan D.H., 1991. Science, 253, 448-451.

Bergmeyer H. U., 1974. in: Methods of enzymatic analysis. Pages 1127, 1196, 1238, 1464. Bourne, G. H., ed. New York Academic Press.

Dalrymple R. H., Hamm R., 1973. J. Food Technol., 8, 439-444.

Monin G., Sellier P., 1985. Meat Sci., 13, 49-63.

Koeck T., Levison B., Hazen S.L, Crabb J.W., Stuehr D.J., Aulak K.S., 2004. Mol. Cell. Proteomics, 3, 548-557.

Crow V.L., Wittenberger C.L., 1979. J. Biol. Chem., 254(4), 1134-1142

Beutler E., 1971. Nature: New Biol., 232(27), 20-21.

Conrad H., Smith L., 1956. Arch. Biochem. Biophys., 63(2), 403-413.

Mc Kee S.R., Sams A.R., 1997. Poult. Sci., 76, 1616-1620.

Sayre R.N., Briskey E.J., Hoekstra W.G., 1963. J. Anim. Sci., 22, 1012-1020.

#### Remerciements

Les auteurs remercient chaleureusement D Chadeyron (INRA, URH, Clermont-Ferrand-Theix) pour la réalisation des activités enzymatiques de la PFK et de la COX.

# REGULATION DU GLYCOGENE MUSCULAIRE ET RELATION AVEC LA QUALITE DE LA VIANDE DE POULET

# JLALI M.¹, SIBUT V.¹², N. SELLIER¹, TESSERAUD S.¹, METAYER COUSTARD S.¹, GIGAUD V.², DUCLOS M. J.¹, LE BIHAN-DUVAL E.¹, BERRI C.¹

<sup>1</sup>INRA, UR83 Recherches Avicoles, 37380 Nouzilly; <sup>2</sup>ITAVI, 37380 Nouzilly

#### Introduction

Depuis quelques années, nous assistons à une forte progression de la consommation de produits élaborés (découpe, jambons, etc.) au détriment des volailles consommées en carcasses entières. Ceci pose la question de l'adaptation de la viande à ces nouvelles formes d'utilisation et renforce l'importance de sa qualité technologique. Chez le poulet, les réserves musculaires en glycogène disponibles au moment de la mort (mesurées au travers du potentiel glycolytique) constituent un élément déterminant de la qualité *via* leur effet sur le pH ultime de la viande. L'objectif du présent travail est d'approfondir l'étude des voies métaboliques impliquées dans les variations de glycogène musculaire, en focalisant sur un certain nombre d'enzymes contrôlant la synthèse et la dégradation du glycogène dans le muscle telles que l'AMP-activated protéine kinase (AMPK), la proteine kinase B (Akt), la glycogène synthase kinase 3 (GSK3) et la glycogène synthase (GS) (cf Figure 1).

#### Matériels et Méthodes

<u>Dispositif expérimental:</u> Les poulets étudiés (mâles et femelles) sont issus de deux lignées expérimentales maigre et grasse sélectionnées pour ou contre l'engraissement abdominal (Leclercq et al., 1980, Br. Poult. Sci., 21: 107-113). A partir de 3 semaines d'âge et jusqu'à l'abattage à 9 semaines, les animaux des deux lignées ont reçu deux aliments expérimentaux isoénergétiques mais qui diffèrent pour la teneur en protéines : P+ à 22,9% MAT ou P- à 17% MAT.

<u>Mesures de composition corporelle et de qualité de viande</u>: Les poulets ont été abattus à l'abattoir expérimental de l'INRA de Nouzilly. Le jour de l'abattage, nous avons prélevé et stocké à -80°C du muscle *Pectoralis major* en vue des analyses biochimiques. Le lendemain, nous avons prélevé le gras abdominal et un filet afin de déterminer la composition corporelle des animaux. Des mesures de pH ultime, de couleur (luminance L\*, indices de rouge et de jaune a\* et b\*) et d'exsudat (après 4 jours de ressuage à +2°C) ont également été réalisées sur le muscle *Pectoralis major*.

<u>Quantification des niveaux protéiques et de l'état de phosphorylation :</u> Cette analyse a été réalisée sur les mâles de 3 groupes : maigres nourris avec P-, gras nourris avec P- et maigres nourris avec P+. Les mesures ont été réalisées par Western Blot en utilisant des anticorps phosphospécifiques dirigés contre l'AMP-activated protein kinase (AMPK), la glycogène synthase kinase 3 (GSK3), la protéine kinase B (Akt) et la glycogène synthase (GS). Les données ont été normalisées par une protéine de référence, la vinculine.

<u>Analyses statistiques</u>: Pour les caractéristiques zootechniques et de qualité de viande, les effets du type génétique, de l'aliment et du sexe, ainsi que leurs interactions ont été testés par analyse de variance à trois facteurs (procédure GLM de SAS). Dans le cas d'interactions, des analyses à un facteur ont été réalisées. Pour les analyses sur les protéines, les effets du type génétique et de l'aliment ont été testés séparément par analyse de variance. Dans le cas d'un effet significatif, les moyennes par traitement ont été comparées par le test de Student Newman-Keuls.

#### Résultats

Composition corporelle et qualité du filet : Les données relatives au poids vif, à la composition corporelle des animaux et aux caractéristiques du muscle *Pectoralis major* sont présentées dans le Tableau 1. La lignée grasse présente un rendement en filet inférieur de 9% et en gras abdominal plus de 2 fois supérieur à celui de la lignée maigre. L'aliment riche en protéines P+ favorise la croissance (+10%) et le développement du filet (+2,7%) et diminue l'engraissement de la carcasse (-16% de gras abdominal). Les poulets mâles présentent un poids vif à l'abattage nettement supérieur à celui des femelles (+24%), qui par contre sont caractérisées par un engraissement abdominal supérieur (+31%) à celui observé chez les mâles. Il existe un effet significatif de la lignée, de l'aliment et du sexe sur le potentiel glycolytique (PG) du muscle *Pectoralis major*. Le PG est plus élevé chez les femelles. Une interaction est observée entre les effets de la lignée et de l'aliment. L'aliment affecte (P<0,01) le PG uniquement chez les animaux maigres, le PG étant plus élevé avec le régime P+ comparé au P- (Tableau 2). En accord avec les variations de PG, le pH ultime musculaire et les caractéristiques de couleur et de rétention en eau sont affectés par la lignée, l'aliment et le sexe.

**Tableau 1 :** Effet du génotype, de l'aliment et du sexe sur la croissance, la composition corporelle des animaux et les caractéristiques du muscle *Pectoralis major* (n = 72 pour PG ou 240 pour les autres critères)

	Gras	Maigre	Effet lignée	P-	P+	Effet aliment	M	F	Effet sexe	LxA	LxS	AxS
Poids vif	2037a	1975b	***	1908b	2104a	***	2217a	1787b	***	NS	NS	*
% filet	4,66a	2,09b	***	3,67a	3,08b	***	2,92b	3,84a	***	NS	NS	NS
% gras abdo	12.08b	13,32a	***	12,53b	12,87a	***	12,63	12,77	NS	NS	NS	NS
PG	105,1a	99,8b	**	100,2b	104,5a	*	99,2a	105,9b	**	*	NS	NS
$pH_u$	5,76b	5,83a	***	5,82a	5,78b	***	5,83a	5,77b	***	***	NS	NS
L*	48,07a	45,50b	***	45,95b	47,64a	***	46,08b	47,56a	***	***	NS	NS
a*	-0,40b	1,17a	***	0,86a	-0,08b	***	0,40	0,38	NS	***	NS	NS
b*	9,05b	12,44a	***	11,58a	9,91b	***	10,42b	11,07a	***	NS	NS	NS
Exsudat	1,34a	1,05a	***	1,08b	1,30a	***	1,02b	1,38a	***	**	NS	NS

a, b Pour un facteur de variation donné, les moyennes présentant des lettres différentes au sein d'une même ligne sont significativement différentes (P<0,05). NS : non significatif ; \* P≤0,05 ; \*\*P≤0,01 ; \*\*\*P≤0,001.

**Tableau 2 :** Effet du régime sur les caractéristiques du muscle *Pectoralis major* dans les 2 lignées (n = 36 pour PG ou 120 pour les autres critères)

	G	ras		Ma	igre	
	P-	P+		P-	P+	
PG	104,8	105,4	NS	94,9b	103,9a	**
pHu	5,76	5,77	NS	5,88a	5,79b	***
L*	47,91	48,24	NS	43,95b	47,04a	***
a*	-0,17a	-0,63b	***	1,91a	0,45b	***
Exsudat	1,30	1,37	NS	0,87b	1,23a	***

a, b Pour un facteur de variation donné, les moyennes présentant des lettres différentes au sein d'une même ligne sont significativement différentes (P<0,05). NS: non significatif; \*\*P\u20100,01; \*\*\*P\u2010000001.

Niveaux de phosphorylation de l'AMPK, d'Akt et de la GSK3 (Tableau 3): Un effet significatif à la fois de l'aliment et de la lignée est observé sur les niveaux de phosphorylation de l'AMPKα (Thr172), de la protéine kinase B (Akt) (Ser473) et de la glycogène synthase (Ser641) (P≤0.05): ces niveaux sont supérieurs chez les poulets maigres par rapport aux gras et chez les poulets nourris avec le régime P- par rapport au régime P+, c'est-à-dire chez les animaux présentant les réserves en glycogène musculaire les plus faibles. Par contre, le niveau de phosphorylation de la GSK3 ne varie ni avec le génotype ni avec le régime.

**Tableau 3 :** Effet du génotype (maigre *vs* gras en condition de régime P-) et du régime (P+ *vs* P- au sein du génotype maigre) sur les niveaux de phosphorylation (U.A, corrigés pour la vinculine) (n = 6)

Protéine	Gras P-	Maigre P-	Maigre P+	Effet génotype	Effet aliment
p-AMPKα (thr172)	$0.91 \pm 0.12b$	$1.28 \pm 0.32ax$	$0.92 \pm 0.13y$	*	*
p-Akt (ser473)	$0.90 \pm \ 0.60b$	$1.56 \pm 0.43$ ax	$1.01 \pm 0.22y$	*	*
p-GSK3- $\alpha$ - $\beta$ (ser21/9)	$1.03\pm0.36$	$1.13\pm0.28$	$1.07\pm0.26$	NS	NS
p-GS (ser641)	$0.94 \pm 0.18b$	$1.23 \pm 0.20$ ax	$0.92 \pm 0.14$ v	*	*

a, b Au sein du régime P- ou x, y au sein de la lignée maigre, les moyennes présentant des lettres différentes au sein d'une même ligne sont significativement différentes (P<0,05). NS: non significatif; \*: P \le 0,05.

### Discussion et conclusion

Cette étude a mis en évidence une association entre l'activation de gènes (mesurée par les niveaux de phosphorylation) et la diminution des réserves musculaires en glycogène. Ainsi chez les animaux qui présentent le potentiel glycolytique le plus faible, les niveaux d'activation de l'AMPK et de l'Akt sont plus élevés, avec pour conséquence l'inhibition de la glycogène synthase (Figure 1). Il est nécessaire maintenant de confirmer le rôle de ces gènes en étudiant leur régulation à la fois par des facteurs d'élevage (alimentation) et au niveau génétique.

PAkt GSK3 AMPK

GYS

Glucose Glycogène

## Q-PORKCHAINS : PROGRAMME INTEGRE EUROPEEN DE RECHERCHES FP6 – 2007 à 2011

# LEBRET B.<sup>1</sup>, DOURMAD J.Y.<sup>1</sup>, LARZUL C.<sup>2</sup>, LAVILLE E.<sup>3</sup>, BONNEAU M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR 1079 Systèmes d'Elevage et Nutrition Animale et Humaine, F-35590 Saint-Gilles <sup>2</sup>INRA, UR 337 Génétique Quantitative et Appliquée, 78352 Jouy-en-Josas cédex <sup>2</sup>INRA, UR QuAPA, Theix, 63122 Saint-Genès – Champanelle

#### Introduction

Le programme européen Q-Porkchains (<u>www.q-porkchains.org</u>) a pour objectif d'améliorer la qualité des viandes et produits du porc, par le développement de filières de production innovantes, intégrées et durables et qui conduisent à des produits de haute qualité correspondant à la demande des consommateurs. Ce projet intégré (FP6, 2007-2011) est coordonné par Prof. Anders H. Karlsson (Université de Copenhague, Faculté des sciences de la vie, DK). Il rassemble 51 partenaires de la recherche, du développement et des industries de la filière porcine issus de 19 pays européens ou non européens (Chine, USA, Brésil, Afrique du Sud). Plusieurs partenaires français sont impliqués : l'INRA (Départements Physiologie Animale et Systèmes d'Elevage, Génétique Animale, Caractérisation et élaboration des produits issus de l'agriculture), l'Institut Polytechnique La Salle Beauvais, l'IFIP-Institut du Porc, la Chambre Régionale d'Agriculture de Bretagne, le groupe Glon et France Hybrides. Les activités développées dans ce programme sont réparties en 8 modules et représentent un coût total de 20,7 millions €, dont 14,6 millions € de soutiens européens.

#### Objectifs et structure du programme

#### Six modules de recherche

*Module I : Consommateurs, citoyens et marché,* coordonné par K.G. Grunert, Université de Aarhus, Aarhus Business School, Danemark. Les rôles de consommateur et de citoyen sont combinés dans une seule étude. Ceci aboutira à une représentation large des défis auxquels le secteur porcin devra faire face, en provenance de la société et du marché. Le module I fournira les bases pour des travaux ultérieurs sur le développement et le test de nouveaux concepts de produits ainsi que des recommandations générales sur le développement et le marketing de produits porcins.

Module II: Production du porc: Diversité, flexibilité et durabilité des systèmes de production. Ce module coordonné par M. Bonneau, INRA UMR SENAH a pour objectif de contribuer au développement de systèmes de production primaire durables (au niveau de l'exploitation porcine) et diversifiés qui répondent aux demandes du marché et de la société. Une diversification et une flexibilité accrues permettront de concevoir des systèmes de production mieux adaptés aux conditions locales et à des segments spécifiques de marché. L'INRA (UMR SENAH Saint-Gilles, équipe Elevage, Environnement et Bien-être), l'IFIP-Institut du Porc, la Chambre Régionale d'Agriculture de Bretagne constituent des partenaires importants de ce module dont l'activité est répartie en trois Work-Packages (WP) :

- Evaluation des outils existants et développement de nouveaux outils pour la mesure de la durabilité, animé par S. Edwards (Université de Newcastle, Royaume Uni).
- Evaluation intégrée de la durabilité de différents systèmes de production de porcs existants, animé par M. Bonneau,
- Amélioration des systèmes et systèmes d'assurance qualité, animé par K. de Greef, Wageningen University and Research Center (WUR), Pays Bas.

*Module III : Développement de produits : qualité, nutrition, praticité et sécurité.* Coordonné par J. Arnau, IRTA, Espagne, ce module porte sur le développement de technologies innovantes pour des produits améliorés répondant aux demandes du consommateur relatives à la qualité, la nutrition et à la facilité de préparation.

**Module IV:** Gestion des filières de production. Coordonné par J. Trienekens, WUR, Pays Bas, ce module porte sur la gestion intégrée de la qualité et de la logistique ainsi que sur l'optimisation de réseaux durables, à l'aide de systèmes avancés d'information entre entreprises et de structures organisationnelles connectées. Les innovations sur les process et les produits seront mises en relations avec les demandes du marché tout au long de la filière.

Module V: Nouveaux outils moléculaires pour le contrôle de la qualité des viandes. N. Oksbjerg, Université de Aarhus, Faculté de Sciences Agronomiques, Danemark anime ce module dans lequel est fortement impliqué l'INRA: UMR SENAH Saint-Gilles, équipe Elaboration des Tissus et Qualité des viandes; unités EASM, Le Magneraud; QuaPA, Theix; SGQA, Jouy en Josas ainsi que France-Hybrides. L'objectif est d'identifier de nouveaux outils de prédiction de la qualité des viandes porcines. Ceci conduira à de meilleures bases pour la mesure de la qualité et la détermination du prix du porc, pour les besoins des consommateurs et des distributeurs. Le module compte 3 W:

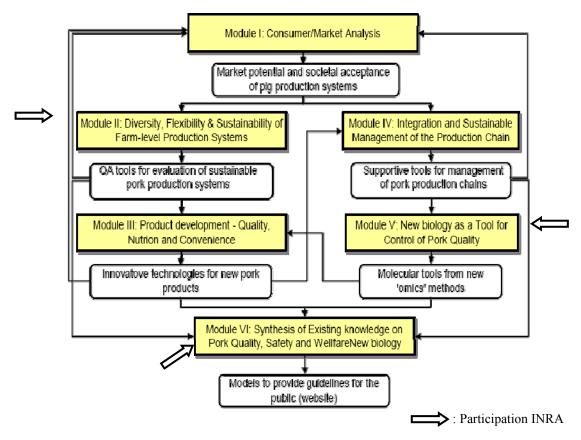
- Identification de marqueurs moléculaires (méthodes génomiques) pour l'évaluation de la qualité (muscle et tissu adipeux), animé par M. te Pas, WUR, Pays Bas,
- Application des nouveaux marqueurs moléculaires à des produits issus de différents systèmes de production ou procédés et répondant aux attentes des consommateurs, animé par B. Lebret, INRA UMR SENAH,

- Approfondissement des connaissances sur les relations entre biologie du muscle et qualité des viandes, animé par B. Thomsen, Université de Aarhus, Faculté de Sciences Agronomiques, Danemark.

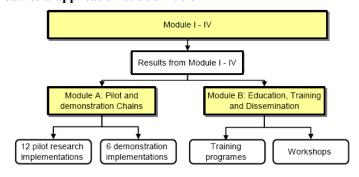
Le travail entrepris par l'INRA dans ce module et les premiers résultats sont présentés au cours de ces Journées (Lebret et al., 2008). Les résultats en cours d'acquisition seront présentés lors des prochaines éditions des JSMTV.

Module VI: Synthèse des connaissances sur la qualité, la sécurité alimentaire et le bien-être, coordonné par K. de Greef, WUR, Pays Bas. Ce module intègre dans des modèles prédictifs les connaissances existantes sur la qualité et la sécurité des viandes, ainsi que sur le bien-être animal. Pour les trois thèmes l'objectif est rendre les résultats disponibles sur un modèle interactif disponible sur Internet. Plusieurs unités INRA sont impliquées: UMR SENAH Saint-Gilles, équipe Elevage, Environnement et Bien-être; SGQA, Jouy en Josas; URH, Theix; PNA, Paris.

- Modèle qualité, animé par A. Wilson (Scottish Agricultural College, Ecosse)
- Modèle sécurité : animé par D. Bolton (Teagasc, Irlande)
- Modèle Bien-être : animé par K. de Greef (WUE, Pays-Bas)



## Modules d'application et de diffusion



Module A: Filières pilotes et de démonstration, coordonné par B. Petersen, GIQS (« Trans border quality management »), Allemagne.

*Module B : Diffusion*, coordonné par M. Christensen (Université de Copenhague, Faculté des Sciences de la Vie, Danemark).

#### Q-POrkchains, un projet de recherches intégré

Les modules de recherche et transversaux sont fortement liés entre eux par la conduite d'activités de recherche communes valorisées sous différentes dimensions (ex. Modules II et V) mais aussi l'acquisition de résultats nécessaires au développement d'autres modules, comme représenté sur les figures ci-dessus.

#### Remerciements

Les auteurs remercient la participation de la Communauté Européenne, 6è PCRD, pour le Projet Intégré Q-PORKCHAINS FOOD-CT-2006-036245.

# SELECTION GENETIQUE SUR LA REPONSE AU STRESS ET STRESS A L'ABATTAGE: CONSEQUENCES SUR LA QUALITE DE LA CHAIR CHEZ LA TRUITE ARC-EN-CIEL

LEFEVRE F.<sup>1</sup>, COS, I.<sup>1</sup>, POTTINGER, T.G.<sup>2</sup>, BUGEON J.<sup>1</sup>

1: INRA, UR1037, SCRIBE, IFR 140, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex France 2: Centre for Ecology and Hydrology, Lancaster LA1 4YQ, England

#### Introduction

L'origine génétique des animaux est un des facteurs déterminant des caractéristiques des poissons en élevage (croissance, morphologie) et de la qualité de leur chair. Une sélection divergente, basée sur la réponse individuelle des truites, en terme de niveau plasmatique de cortisol, suite à un stress aigu de confinement, a permis de montrer que ce paramètre est héritable, et d'obtenir des familles de truites présentant des niveaux de réponse à un stress aigu bien distincts (Pottinger & Carrick, 1999). Les animaux de ces familles divergentes ont été caractérisés pour leur croissance, qui s'avère meilleure pour les poissons répondant faiblement au stress, leur comportement social, et leur performance de reproduction, mais la qualité de la chair de ces animaux n'a pas été caractérisée.

Un stress au moment de l'abattage altère le métabolisme *post-mortem* et conduit, la plupart du temps chez les salmonidés, à une chair moins ferme et plus pâle (Lefevre et al., 2008).

Les objectifs de ce travail étaient (1) de comparer les caractéristiques des truites répondant fortement ou faiblement à un stress aigu, en terme de morphologie et de qualité de la chair, et (2) de tester si l'effet d'un stress à l'abattage était similaire pour des truites de ces deux souches.

#### Matériels et Méthodes

Quarante truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) répondant fortement (**HR** pour "High Responding") et 40 truites répondant faiblement (**LR** pour Low Responding") à un stress aigu, ont été analysées au stade portion (poids moyen 254g). Les poissons ont été abattus soit selon une procédure non stressante (groupe **NS**, anesthésie et coup sur la tête), soit selon une procédure stressante (groupe **S**, 15 min de confinement, anesthésie, coup sur la tête,). Les poissons ont été pesés et mesurés au pied à coulisse (morphologie externe), la teneur en cortisol plasmatique a été mesurée, et l'état d'engraissement a été évalué par une mesure au fat-meter. L'analyse histologique a été réalisée sur des échantillons de muscle blanc et de muscle rouge, fixés au Carnoy, déshydratés puis inclus dans la paraffine. Les coupes ont été colorées au Rouge Sirius et Fast Green à 0,1% dans une solution saturée d'acide picrique et les images observées au microscope ont été numérisées. La surface de 600 à 1200 fibres pour le muscle blanc et de 200 à 500 fibres pour le muscle rouge a été mesurée à l'aide d'un logiciel d'analyse d'image (Visilog 6.5® pour Windows®). La teneur en matières sèches et la résistance mécanique de la chair (mesure de compression -cisaillement avec un outil de type presse de Kramer sur un Instron®) ont été évaluées sur un morceau de filet, prélevé en position médiane, cru et après cuisson au four micro-onde (450W, jusqu'à une température à cœur de 55-60°C) à 3 jours et 6 jours *post-mortem*, respectivement. Le pH musculaire (sonde à pénétration) et la couleur des filets (chromamètre Minolta CR-200) ont été mesurés à l'abattage.

#### Résultats et Discussion

La sélection génétique sur la réponse au stress a eu un impact sur la croissance des poissons et leur morphologie. Les truites LR avaient un poids et une longueur supérieurs, mais un coefficient de condition (K=poids/longueur<sup>3</sup>) plus faible (Tableau 1), ce qui révèle une différence de morphologie. Les mesures morphométriques ont confirmé cet effet, les poissons HR étaient proportionnellement plus épais et plus hauts, et avaient une nageoire caudale plus longue que les truites LR. Comme attendu, le stress à l'abattage a eu un effet différentiel sur la teneur en cortisol plasmatique des deux lignées. Les truites HR stressées avaient des teneurs en cortisol plasmatiques 78% supérieures aux LR stressées. Les poissons HR et LR ont montré également des différences de niveaux d'engraissement. Les LR étaient globalement plus gras, avec un rendement en carcasse plus faible (résultant d'une plus grande adiposité périviscérale), et des valeurs fatmeter et des teneurs en matières sèches supérieures chez les LR par rapport aux HR. Un effet de la sélection génétique a été également observé sur la taille des fibres musculaires, les LR présentaient de plus grosses fibres musculaires que les HR pour les muscles blanc et rouge. Pour le muscle blanc cet effet est lié à la taille plus importante des LR, mais la différence de poids ne suffit pas à expliquer l'écart pour le muscle rouge. Les poissons LR avaient également des filets plus colorés, mais moins lumineux que les poissons HR. Les poissons HR avaient des filets crus plus résistants que les LR, mais l'inverse a été mesuré sur les filets cuits. Les différences de résistance mécanique mesurées sur les filets crus peuvent résulter de la plus forte teneur en lipides des filets des poissons LR et de leur taille de fibres musculaires supérieure. Les résultats obtenus après cuisson sont plus difficiles à interpréter, ils suggèrent une plus forte proportion de tissu conjonctif chez les poissons HR qui les rendrait plus résistants en cru mais moins résistant après cuisson, en raison de la thermolabilité du collagène de poisson.

Le stress à l'abattage a fortement augmenté la concentration en cortisol plasmatique des poissons qui était, en moyenne, 28 fois plus élevé chez les poissons S que chez les NS. Le stress a également conduit à une diminution du pH musculaire initial (mesuré dans l'heure suivant l'abattage) en raison de l'accumulation de lactate qui accompagne l'activité musculaire des poissons dans cette situation de stress de confinement. Le stress n'a pas eu d'effet sur la couleur des fîlets, mais a conduit à une texture plus molle de la chair des animaux stressés. Ce résultat classique est associé à une altération des structures et des composants protéiques, suite à un stress d'abattage, qui concerne aussi bien les fîbres musculaires que la trame conjonctive. Par contre la chair des poisson stressés présentait une résistance mécanique plus forte que celles des NS après cuisson, ce qui est un résultat plus étonnant. Le stress à l'abattage n'a pas eu d'effet sur la couleur des fîlets. Aucun effet du stress à l'abattage n'a été mesuré sur la taille des fîbres du muscle blanc, mais les fîbres du muscle rouge des truites stressées étaient plus petites que celles des poissons non stressés. Une utilisation des réserves énergétiques (lipides, glycogène) peut être suspectée pour expliquer cette diminution.

En dehors de l'effet sur les concentrations en cortisol plasmatique, aucune interaction entre les effets de la sélection et les effets d'un stress à l'abattage n'a été observée. Le stress au moment de l'abattage a donc eu des conséquences similaires sur les poissons répondant fortement ou plus faiblement à un stress aigu.

**Tableau 1** : Comparaison des caractéristiques des poissons, de la taille des fibres musculaires et de la qualité de la chair chez des truites répondant fortement (HR) ou faiblement (LR) à un stress aigu, et soumises (S) ou non (NS) à un stress au moment de l'abattage.

Paramètres	S :	HR-NS	HR-S	LR-NS	LR-S	Sel.	NS/ S	Sel. x Stress
Poids vif (g	g)	242±47	225±31	271±45	279±43	***	NS	NS
Coefficient de con (g.mm <sup>-3</sup> )	dition K	1,16±0,06	1,16±0,03	1,13±0,08	1,14±0,05	*	NS	NS
Rendement carca	isse (%)	89,8±1,2	89,6±0,1	88,3±1,4	89,1±1,2	***	NS	NS
Valeur Fat-mete	r <sup>®</sup> (%)	2,2±0,7	2,5±0,7	3,3±0,8	3,4±0,8	3,4±0,8 ***		NS
Cortisol plasmatique (ng/ml)		3,7±3,6°	103,6±30,6 <sup>a</sup>	2,2±1,7°	59,6±19,1 <sup>b</sup>	59,6±19,1 <sup>b</sup> ***		***
pH initial		7,0±0,2	6,8±0,1	7,0±0,2	6,6±0,2	p=0,09	***	p=0.07
Ø moyen des	Muscle blanc	38,6±2,4	40,9±3,7	42,1±2,7	42,2±3,3	**	NS	NS
fibres musculaires (μm)	Muscle rouge	27,6±3,3	24,9±2,0	30,5±2,5	29,5±3,4	***	*	NS
	L*	46,8±1,8	46,3±1,2	45,0±1,2	44,4±1,6	***	NS	NS
Couleur des filets	a*	-1,04±0,70	-0,85±0,54	-0,37±0,67	-0,32±0,74	***	NS	NS
	b*	7,24±2,25	7,58±1,50	9,81±2,42	8,64±2,61	**	NS	NS
Matières sèche	s (%)	22,4±0,5	22,5±0,5	23,7±1,1	23,4±0,8	***	NS	NS
Resistance	chair crue	20,2±3,2	19,3±2,0	18,1±2,1	16,3±2,0	***	*	NS
spécifique (N/g)	chair cuite	17,3±2,6	19,5±2,3	20,4±2,7	22,1±5,4	**	*	NS

Sel.: selection, NS: Non Significatif, \*: p<0,05, \*\*: p<0,01, \*\*\*: p<0,001, n≥16.

#### Conclusions

Une sélection divergente sur la réponse à un stress aigu, conduit à des animaux de morphologies distinctes, et présentant des caractéristiques de qualité de la chair différentes. Le stress à l'abbatage a conduit à un attendrissage plus important de la chair crue, résultat classiquement observé chez les salmonidés, mais à une texture plus ferme après cuisson. Les conséquences de ce stress ont été limitées et similaires pour les poissons des deux lignées sélectionnées. La maitrise des conditions d'abattage pour limiter les stress des animaux reste donc un enjeu majeur à la fois pour le respect du bien-être animal et pour éviter d'altérer la qualité du produit.

#### Références bibliographiques

Lefevre F., Bugeon J., Auperin B., Aubin J., 2008. Aquaculture, sous presse. Pottinger T.G., Carrick T.R., 1999. Gen. Comp. Endocrinol. 116, 122-132.

#### Remerciements

Les auteurs remercient Dave Abel pour l'élevage des poissons et son aide lors de l'abattage, et Gilles Paboeuf pour son aide technique lors des mesures de qualité au laboratoire. Ce travail a été financé dans le cadre du projet européen Aquafirst n° 513692.

# EXPRESSION DIFFERENTIELLE DES COMPOSANTS DE LA MATRICE EXTRACELLULAIRE AU COURS DU DEVELOPPEMENT MUSCULAIRE FOETAL

# LISTRAT A. $^{1*}$ , JEAN DIT GAUTIER E. $^{1}$ , CATERSON B. $^{2}$ , PICARD B. $^{1}$ , LETHIAS C. $^{3}$ , BECHET D. $^{4}$

<sup>1</sup>INRA, URH, F-63122 Saint-Genès Champanelle, France; <sup>2</sup>Connective Tissue Biology Laboratories, Cardiff University, Cardiff CF10 3US, UK; <sup>3</sup> IBCP, CNRS UMR 5086, 7 passage du Vercors - 69367 Lyon cedex 07 France; <sup>4</sup>INRA, UMR1019 Nutrition Humaine, F-63122 Saint-Genès Champanelle, France.

#### Introduction

Le but de la présente étude était de mieux comprendre comment se fait l'ontogenèse de la matrice extracellulaire (MEC). Nous nous sommes focalisés sur certains de ses composants que sont les protéoglycanes (PGs), les collagènes et sur deux glycoprotéines (la ténascine X et l'intégrine β1). Le développement fœtal du muscle *Semitendinosus* a été comparé entre 2 races bovines, la Charolaise (CH) et la Blonde d'Aquitaine (BA). Les BA sont particulièrement intéressantes car elles possèdent, comme les animaux culards, des muscles hypertrophiés dont l'origine ne peut pas être attribuée à une mutation du facteur de croissance myostatine comme chez les culards (Listrat *et al.*, 2001).

#### Matériel et méthodes

Le muscle *semitendinosus* (ST) de fœtus de race CH et de race BA a été prélevé à différents stades (60, 110, 180, 210, 260 jours [j] *post-conception* [pc]) et les différentes molécules d'intérêt ont été étudiées par immunohistologie indirecte, à l'aide d'anticorps monoclonaux. Nous nous sommes intéressés aux collagènes de type I, III, IV, V, VI, XII et XIV, à différents protéoglycanes et chondroïtines sulfates (décorine, versicane, chondroïtines 4 et 6 sulfates [C4S et C6S] et à 2 glycoprotéines, la ténascine X et l'intégrine β1.

#### Résultats et discussion

Chez la BA, nous avons montré que les collagènes I, IV, VI, XII et XIV sont présents tout au long de la période étudiée. Leur localisation est la même que celle décrite précédemment pour la race CH (Listrat et al., 2000).

Concernant les protéoglycanes, nous avons mis en évidence un certain nombre de résultats originaux. La décorine, un petit PG de la famille des chondroïtine sulfate/dermatan sulfate, dont le coeur protéique est riche en leucine, est présente dès 60 jpc dans le périmysium et devient présente dans l'endomysium à 180 (BA) ou à 210 jpc (CH) selon la race. A 260 jpc, elle occupe toute la MEC, ce qui signifie qu'elle augmente au cours du développement musculaire. Ces résultats sont en accord avec ceux de Nishimura et al. (2002). Chez l'adulte, elle a été identifiée dans de nombreux tissus, dont le tissu musculaire (Nishimura et al., 2002) dont elle est le PG majoritaire. *In vitro*, elle a été montrée comme participant à la fibrillogenèse des collagènes de type I, III, II (Scott, 1988). Ce PG nous intéresse car, outre son interaction avec les collagènes fibrillaires et avec le collagène de type VI, il est supposé interagir avec les collagènes XII et XIV (Font et al., 1996) ainsi qu'avec la myostatine (Nishimura et al., 2007).

Le versicane, un grand PG à chondroîtine sulfate (PM de plus de 1 000 kD) est présent chez les races CH et BA de 60 à 210 jpc dans l'endomysium. A 260 jpc, il n'est plus que très légèrement présent dans le périmysium. Le versicane est aussi appelé chondroïtine sulfate PG-2 (CSPG-2) et PG-M. Il joue un rôle dans l'adhésion cellulaire, la migration et la prolifération. Il est souvent considéré comme une molécule anti-adhésive. De par sa grande taille et ses propriétés de rétention d'eau, il est possible qu'il gène l'accès aux intégrines, récepteurs cellulaires de certaines molécules de la MEC. Sa partie N-terminale a un rôle important dans le maintien de l'intégrité de la MEC grâce à des interactions avec l'acide hyaluronique (pour revue, Zimmermann, 2000). Si l'on considère la décorine et le versicane, tout se passe donc comme si, lors du développement, l'un remplaçait l'autre au niveau de l'endomysium. Ceci confirme les résultats obtenus *in vitro* et *in ovo* par Carrino et al. (1999). Ces auteurs ont décrit la synthèse pendant la myogenèse précoce, d'un grand protéoglycane, le versicane, alors que lors de la myogenèse tardive, ils avaient mis en évidence un petit protéoglycane, la décorine.

Des protéoglycanes à **C6S** et **C4S** sont aussi présents tout au long de la période étudiée. Les C4S sont localisés à 60 et 110 jpc au niveau de l'endomysium puis à partir de 180 jpc apparaissent dans le périmysium. Les C6S sont présentes dès 60 jpc et localisées exclusivement au niveau de l'endomysium. Les PGs parents des C4S et C6S ne semblent pas avoir été identifiés.

La ténascine X est une glycoprotéine, exprimée au niveau du muscle, de l'épiderme et du système nerveux (Chiquet-Ehrismann et Tucker, 2004). Elle joue un rôle central dans l'organisation de la MEC du muscle via son interaction avec différents éléments de cette matrice comme les collagènes I, III, V, XII et XIV (Lethias et al., 2006) et la décorine (Elefteriou et al., 2001). Son implication biologique est importante pour les propriétés mécaniques de la

MEC (Veit et al., 2006). Lors de notre étude, nous l'avons mise en évidence dans le périmysium tout au long de la période étudiée. Ce résultat est intéressant car à notre connaissance, la ténascine X est connue comme étant présente dans le muscle squelettique, mais son ontogenèse au cours du développement fœtal n'a pas encore été étudiée, du moins chez le bovin.

La partie la plus originale de nos résultats concerne les différences observées entre les deux races. Chez la BA, le marquage avec les collagènes I, XIV, la décorine, et la tenascine X est plus important que chez la CH. Chez la CH, ce sont les collagènes VI et XII qui sont présents en quantité plus importante. Or il a été montré in vitro que ces molécules sont toutes capables d'influencer la fibrillogenèse en interagissant les unes avec les autres en créant des ponts avec les collagènes fibrillaires (Nishiyama et al., 1994). Nous pouvons donc émettre l'hypothèse que des variations dans les proportions de ces différentes molécules peuvent entraîner des modifications de l'organisation des fibrilles de collagène et donc de la flexibilité de la MEC (Nishiyama et al., 1994). Une autre molécule présente un marquage plus fort chez la BA que chez la CH, il s'agit du versicane. De par ses propriétés antiadhésives, ce PG à chondroïtine sulfate pourrait avoir pour rôle de faciliter l'organisation spatiale des masses pré-musculaires (Snow et al., 2005). Ceci serait en accord avec nos observations qui permettent de supposer qu'en général, la BA est plus en avance que la CH. Cette conclusion découle d'observations faites à l'aide des anticorps anti collagènes I, IV, VI, anti décorine et anti ténascine X qui mettent en évidence que : 1) à 110 jpc chez la BA pratiquement tous les myotubes, primaires ou secondaires semblent individualisés les uns par rapport aux autres. Chez la CH le nombre de myotubes secondaires non encore individualisé (semblant inclus dans la membrane des myotubes primaires) reste important; 2) la décorine et la ténascine X sont présentes, respectivement dans l'endomysium et dans le périmysium, de façon plus précoce chez la BA que chez la CH (180 vs 210 jpc).

L'intégrine β1, très largement présente aux stades 60, 110 et 180 jpc, semble présente en plus grande quantité et plus longtemps chez la BA que chez la CH (210 vs 180 jpc); les stades 60, 110 et 180 jpc, sont ceux auxquels se termine la différenciation de la première génération de myotubes (Picard et al., 2003). Ces résultats sont en accord avec le fait que l'intégrine β1 soit décrite comme impliquée dans la myogenèse précoce (pour revue, Mayer, 2003). Enfin, chez la BA à 180 jpc, on note la présence d'un nombre élevé de petites cellules localisées autour des plus grosses. Chez la BA, ces cellules expriment de la myosine fœtale jusqu'à 260 jpc, alors que chez la CH, cette myosine disparaît entre 210 et 260 jpc. Ceci pourrait donc correspondre à l'apparition d'une nouvelle génération de cellules et à une reprise de prolifération comme cela a été montré chez les animaux culards (Picard et al., 1995). Ce dernier point est actuellement en cours d'étude au laboratoire, mais une fois encore nous avons mis en évidence que la BA pouvait être un modèle très intéressant à étudier dans le cadre de notre problématique.

#### Conclusion

A partir de ces observations, nous pouvons conclure que la race BA, qui bien qu'elle présente une hypertrophie de certains de ces muscles non expliquée par une mutation de la myostatine, est un modèle très approprié pour l'étude du développement musculaire et plus particulièrement pour l'étude de la différenciation de la MEC.

#### Références bibliographiques

Carrino D.A., Sorrel J.M., Caplan A.I. 1999. Poult Sci., 78, 769-777.

Chiquet-Ehrismann R., Tucker R.P. 2004. Inter J Biochem. Cell Biol., 36, 1085-1089.

Elefteriou F., Exposito J. Y., Garrone R., Lethias C. 2001. FEBS Lett., 495, 44-47.

Font B., Eichenberger D., Rosenberg L. M., Van der Rest M. 1996. Matrix Biol., 15, 341-348.

Lethias C., Carisey A., Comte J., Cluzel C., Exposito J.Y. 2006. FEBS Lett., 580, 6281-6285.

Listrat A., Lethias C., Hocquette J.F., Renand G., Ménissier F., Geay Y., Picard B. 2000. 32, 349-356.

Listrat A., Picard B., Jailler R., Collignon H., Peccatte J.R., Micol D., Geay Y., Dozias D. 2001. Anim Res 50, 105-118.

Mayer U. 2003. J Biol Chem., 278, 14587-590.

Nishimura T., Futami E., Taneichi A., Mori T., Hattori A., 2002. Cells Tissues Organs, 636, 1-15.

Nishimura T., Oyama K., Kishioka Y., Wakamatsu J.I., Hattori A. 2007. B.B.R.C., 361, 896–902.

Nishimura T., Taneichi A., Wakamatsu J.I., Hattori A. 2003. Anim. Sci. J., 74, 399-405.

Nishiyama T., McDonough A. M., Bruns R. R., Burgeson R. E. 1994. J. Biol. Chem., 269, 28193-28199.

Picard B., Gagnière H., Robelin J., Geav Y. 1995. J. Mus. Res. Cell M., 16, 626-639.

Picard B., Jurie C., Cassar-Malek I., Hocquette J.F. 2003. INRA Prod. Anim., 16, 125-131.

Scott J. E. 1988. J. Biochem., 252, 313-323.

Snow H. E., Riccio L. M., Mjaatvedt C.H., Hoffman S., Capehart A. A. 2005. Anat. Rec. Part A, 282A, 95-105.

Veit G., Hansen U., Keene D.R., Bruckner P., Chiquet-Ehrismann R., Chiquet M., Koch M. 2006. J Biol. Chem., 281, 27461-27470.

Zimmermann, D.R. 2000. Versican. In: RV Iozzo (ed), 327-341.

# UTILISATION DE RATIONS DE VALEUR CONTRASTEE SUR LES CARACTERISTIQUES DES MUSCLES DE JEUNES BOVINS DE RACE BLONDE D'AQUITAINE

# MICOL D., BAUCHART D., JURIE C., JAILLER R., PICARD B., AGABRIEL J. INRA, UR1213, Unité de Recherches sur les Herbivores, 63122 Saint-Genès-Champanelle.

#### Introduction

Chez les engraisseurs, les jeunes bovins sont alimentés avec des rations de plus en plus riches en énergie (céréales, co-produits) en particulier en race Blonde d'Aquitaine. L'actualisation des tables des besoins des animaux de l'INRA en 2007, nous a conduit à concevoir une expérimentation pour mieux préciser les caractéristiques propres de la race Blonde d'Aquitaine selon la proportion de fourrages et d'aliments concentrés des rations. Cette communication s'intéresse à la quantification des effets de ces rations contrastées sur les performances de croissance, d'abattage et les caractéristiques du tissu musculaire, en particulier les activités enzymatiques caractéristiques du métabolisme et la composition en acides gras (AG) de leurs lipides totaux.

#### Matériel et Méthodes

24 veaux Blonds d'Aquitaine, issus du bassin de la race, ont été retenus à 9 mois d'âge. Ils ont été alimentés *ad libitum* à partir de 3 rations contrastées en terme de valeur énergétique et de composition, constantes tout au long de la finition (3x8): **F** (45 % de foin et concentrés), **EM** (60 % d'ensilage de maïs et concentrés) et **C** (90 % de maïs grain broyé à volonté et paille) sans adjonction dans ces rations de régulateurs de la digestion ou du métabolisme. Un ajustement quotidien des aliments offerts selon les refus antérieurs a permis de maintenir la composition constante des rations au cours de la finition. Les animaux ont été répartis dans 6 cases de 4, (stabulation libre sur aire paillée), en contrôle individuel et quotidien des quantités ingérées des éléments des rations. Les pesées ont été réalisées une fois par semaine. L'abattage a été programmé pour un même poids de carcasse (420 kg) et une note d'état d'engraissement de 3. Les caractéristiques d'abattage, de rendements à l'abattage, et d'éléments du cinquième quartier ont été enregistrées. La composition corporelle a été estimée à l'abattage par la dissection de la 6ème côte et des gras internes.

Après l'abattage, le muscle *rectus abdominis* (RA) et le muscle *semitendinosus* (ST) ont été prélevés, congelés dans l'azote liquide moins de 30 min *post-mortem*, puis conservés à –80°C. Les activités enzymatiques caractéristiques des métabolismes oxydatif (isocitrate déshydrogénase [ICDH] et cytochrome *c* oxydase [COX]) ou glycolytique (phosphofructokinase [PFK] et lactate déshydrogénase [LDH]) des muscles ont été mesurées comme précédemment décrits (Piot et al., 1999; Hocquette et al., 1995). Les lipides totaux des muscles RA et ST ont été extraits par homogénéisation de 6 g de poudre de tissu (préparée par broyage dans l'azote liquide) avec le mélange chloroforme - méthanol 2/1. Leurs AG ont été extraits et transméthylés par le mélange BF3/méthanol et leur composition détaillée déterminée par CPG haute définition sur colonne capillaire CP Sil 88. Le coefficient de réponse de chaque AG a été calculé par l'emploi du mélange quantitatif C4-C24 FAME (Supelco, USA).

Toutes les données ont été analysées par analyse de variance selon les procédures GLM et MIXED de SAS (1998). Les différences entre régimes ont été déclarées significatives à P<0,05 et signalées par des indices de lettres différentes.

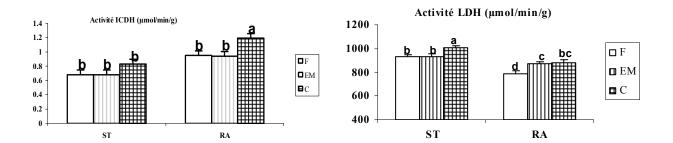
#### Résultats et Discussion

La durée totale moyenne de l'engraissement est de 181, 155 et 138 jours pour les lots F, EM et C respectivement (P<0,05), selon l'objectif d'un même poids de carcasse à l'abattage (> 410 kg). La croissance est supérieure (P<0,001) pour les lots C (1,86 kg/jour) et EM (1,71 kg/jour) par rapport au lot F (1,49 kg/jour). Ces différences sont dues à une augmentation de l'apport en énergie des régimes selon leur concentration énergétique, soit 7,68, 8,20 et 9,28 UFV pour les régimes F, EM, et C respectivement.

Pour des quantités ingérées en matière sèche quasi identiques, la part du contenu digestif diminue pour la ration à base de céréales (- 3 à 4 points, P < 0.05), ce qui se traduit par une augmentation sensible du rendement commercial (+ 2,5-3 points, P < 0.05). Le rendement vrai, relatif aux caractéristiques propres de l'animal, n'est pas modifié par la nature du régime. Le poids vif vide et le poids de carcasse ne sont pas différents entre les lots. Le lot EM est caractérisé à l'abattage par des proportions de dépôts adipeux dans la carcasse et de dépôts adipeux totaux supérieures (P < 0.05) et par une taille des adipocytes plus importante (Micol et al. 2007).

L'activité enzymatique (LDH) représentative du métabolisme glycolytique augmente avec le niveau d'apport d'énergie des rations dans les deux muscles RA et ST (P<0,05) (Figure 1). Par contre, l'activité de l'enzyme PFK également liée au métabolisme glycolytique du muscle n'est pas significativement différente entre les trois lots. Conjointement, l'activité enzymatique (ICDH) représentative du métabolisme oxydatif augmente fortement dans les deux muscles avec le niveau d'apport d'énergie de la ration à base de concentré (C). Par contre, le niveau d'apport d'énergie n'a pas d'effet sur les caractéristiques contractiles (types de myosine, I, IIa, IIx) des deux muscles. Par ailleurs, le muscle RA confirme son caractère plus lent oxydatif et moins rapide glycolytique que le muscle ST.

Figure 1 : Influence du régime (**F**-foin et concentrés, **EM**-ensilage de maïs et concentrés, et **C**-maïs grain broyé à volonté et paille) sur les activités enzymatiques représentatives du métabolisme glycolytique (lactate déshydrogénase, LDH) ou oxydatif (isocitrate déshydrogénase, ICDH) des muscles *semitendinosus* (ST) et *rectus abdominis* (RA) chez des jeunes bovins mâles Blonds d'Aquitaine.



La composition en AG des lipides totaux des muscles RA et ST varie fortement avec le type de régime mais, pour un régime donné, on observe peu de différences entre les deux muscles. Aussi, seules les données du muscle RA sont fournies dans le Tableau 1. Comparé aux régimes F et C, le régime EM favorise le dépôt d'AG saturés, notamment le  $16:0 \ (+17\%, P < 0.05)$  pro athérogène pour l'homme, mais augmente la teneur en  $18:1 \ \Delta \ 9cis \ (+27\%, P < 0.05)$  et en CLA (+40%, P < 0.05) connus pour être antiathérogènes. Le régime à base de foin et de concentré (F) favorise le dépôt de  $18:3n-3 \ (x \ 2.2, P < 0.05)$ , AGPI bénéfique à la santé humaine et déficitaire dans l'alimentation humaine.

Tableau 1 : Influence du régime (F-foin et concentrés, EM-ensilage de maïs et concentrés et C-maïs grain broyé à volonté et paille) sur la composition centésimale des principaux acides gras individuels et des familles d'acides gras des lipides totaux du muscle *rectus abdominis* chez des jeunes bovins mâles Blonds d'Aquitaine.

AG	16:0	18:0	Saturés totaux	18:1 Δ9 <i>cis</i>	18:1 Δ11 <i>tr</i>	AGMI totaux	18:2 n-6	AGPI n-6	18:3 n-3	AGPI n-3	AGPI totaux	CLA	n-6/ n-3	P/S
F	17,9 <sup>b</sup>	16,2 <sup>a</sup>	40,1 <sup>b</sup>	20,3 <sup>b</sup>	2,55 <sup>b</sup>	29,8 <sup>b</sup>	17,7 <sup>a</sup>	25,5 <sup>a</sup>	1,12 <sup>a</sup>	3,60 <sup>a</sup>	29,5 <sup>a</sup>	0,33 <sup>b</sup>	7,28 <sup>c</sup>	0,74 <sup>a</sup>
EM	21,4 <sup>a</sup>	16,4 <sup>a</sup>	44,1 <sup>a</sup>	25,6 <sup>a</sup>	2,04 <sup>c</sup>	35,3 <sup>a</sup>	11,6 <sup>b</sup>	17,5 <sup>b</sup>	0,60 <sup>b</sup>	2,15 <sup>b</sup>	20,1 <sup>b</sup>	0,45 <sup>a</sup>	8,27 <sup>b</sup>	0,47 <sup>b</sup>
C	18,6 <sup>b</sup>	14,1 <sup>b</sup>	39,1 <sup>b</sup>	19,9 <sup>b</sup>	5,05 <sup>a</sup>	32,7 <sup>ab</sup>	18,1 <sup>a</sup>	25,7 <sup>a</sup>	0,41 <sup>c</sup>	1,86 <sup>b</sup>	27,9 <sup>a</sup>	0,31 <sup>b</sup>	13,91 <sup>a</sup>	0,73 <sup>a</sup>

a,0,c P <0.05; AGMI: acides gras monoinsaturés; AGPI: acides gras polyinsaturés; CLA: acide linoléique conjugué; P/S: AGPI/ AG saturés.

De même, comme le régime concentré maïs grain (C), le régime F favorise également le dépôt de 18:2n-6 comparé au régime EM (x 1,5 P <0,05). Ce régime augmente fortement (x 1,5 P <0,05) la teneur en acide vaccénique (18:1  $\Delta$  11tr), cet AG monoinsaturé trans, curieusement, ne favorise pas le dépôt de CLA comme cela est rapporté généralement dans la littérature (Bauchart et al, 2005). Enfin, pour les trois régimes concernés, le muscle RA présente un rapport AGPI n-6/AGPI n-3 largement supérieur (7,3-13,9) au besoin de l'homme (4 à 5) ce qui explique l'intérêt actuel de l'emploi de sources de lipides riches en AGPI n-3 (herbe, graines de lin) (Bauchart et al, 2005, Scollan et al, 2005) pour mieux équilibrer ce rapport.

#### Conclusions

Cette étude précise les effets de rations de niveau d'apports énergétiques très variables, et donc de performances animales très différentes (1,49 à 1,86 kg/j), sur les caractéristiques du métabolisme musculaire de jeunes bovins mâles en finition. Pour la ration à base de concentrés ingérée à volonté, les métabolismes oxydatif et glycolytique semblent stimulés. Classiquement, une augmentation du métabolisme glycolytique est associée à un accroissement de la vitesse de croissance, en particulier au cours d'une phase de croissance compensatrice (Cassar-Malek et al, 2004). L'impact des régimes sur la valeur santé des AG des muscles est marqué, les effets les plus bénéfiques étant plutôt observés avec le régime foin/concentré (F) qu'avec le régime concentré C et surtout le régime d'ensilage de maïs/concentré (EM).

#### Références bibliographiques

Bauchart D., Gladine C., Gruffat D., Leloutre L., Durand D. 2005. EAAP Publ.112 (ed JF Hocquette, S Gigli), 431-436. Cassar-Malek I., Hocquette J.F., Jurie C., Listrat A., Jailler R., Bauchart D., Briand Y., Picard B. 2004. Anim. Sci. 79, 49-59.

Hocquette J.F., Bornes F., Balage M., Ferré P., Grizard J., Vermorel M., 1995. Biochem. J., 305, 465-470. Micol D., Dubroeucq H., Martin C., Garcia F., Mialon M.M., Agabriel J. 2007. Renc. Rech. Ruminants, 14, 233-236. Piot C., Hocquette J.F., Veerkamp J.H., Durand D., Bauchart D., 1999. Brit. J. Nutr., 82, 299-308. Scollan N., Richardson I., De Smet S., Moloney A.P., Doreau M., Bauchart D., Nürnberg K. 2005. EAAP Publ. n°112. (eds. JF. Hocquette and S. Gigli), 151-162.

**Remerciements:** Les auteurs remercient l'ensemble du personnel INRA des installations expérimentales de l'URH-Theix, de l'abattoir de Theix et des laboratoires de l'Unité de Recherches sur les Herbivores concernés.

# LES FIBRES IIB ET LES VAISSEAUX CAPILLAIRES SONT LES TISSUS RESPONSABLES DE L'EXPRESSION PSE DANS LES MUSCLES SEMI MEMBRANOSUS ET LONGISSIMUS DORSI DU PORC

NGO H. P.,\* FIGWER P.,\* GODFRAIND C.,† RUCHOUX M. M.,<sup>‡§</sup> FRANCK M.\*

\* ENV Lyon, Unité de Zootechnie, 1 Avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile

† Département Neuropathologie, Clinique St Luc, ULB, 1200 Bruxelles, Belgique

‡INSERM U689 Lariboisière, 75475 Paris, France; et § CEA, 92265 Fontenay-aux-Roses, France

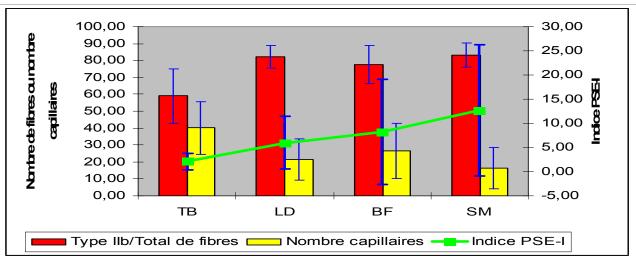
#### Introduction

Pour les viandes déstructurées de type PSE (Franck et al. 1999 ; 2000a), seuls quelques muscles (dorsi longissimus et le semimembranosus) sont impliqués. Selon Franck et al. (2000b), une proportion élevée de fibres avec un métabolisme glycolytique pourrait être responsable de l'affection, notamment si elle est associée à une faible vascularisation induisant un piégeage de l'acide lactique et une nécrose acide. Le but de cette étude est de comparer la typologie des fibres musculaires et le réseau capillaire de plusieurs muscles.

#### Matériels et Méthodes

Au total, 24 porcs de 100 à 120kg de poids vifs sont étudiés. Après la mort, des échantillons de muscles triceps brachialis (TB), de longissimus dorsi (LD), de biceps femoris (BF) et de semimembranosus (SM) de porcs ont été prélevés. L'histo-enzymologie et l'immuno-histochimie ont été employées pour comparer le développement des réseaux capillaires et la typologie des fibres de ces muscles en prenant comme référence le muscle TB. Pour mieux apprécier les résultats, un Index PSE (PSE-I) a été défini: PSE-I = 100 x (proportion de fibres de type IIB rapportée au nombre de fibres total / nombre de capillaires). Plus l'index PSE-I est élevé, plus le muscle est prédisposé à la lésion PSE.

#### Résultats et Discussion



**Figure :** Variation des fibres de type IIb/total de fibres, du nombre de capillaires et de l'indice PSE pour les muscles triceps brachialis (TB), longissimus dorsi (LD), biceps femoral (BF) et semimembranosus (SM).

La proportion de fibres IIB par rapport au total de fibres est relativement homogène dans les muscles atteints et supérieurs de 30% environ à celle du muscle témoin TB. Les capillaires sont 2 fois plus importants en nombre dans le TB, le SM est le moins vascularisé des 3 muscles habituellement atteints.

#### Conclusion

Une augmentation de l'index PSE est systématiquement trouvée dans les muscles habituellement touchés et connus pour leur sensibilité à cette affection. Ces résultats prouvent que les muscles les plus atteints sont bien constitués en majorité de fibres de type IIB, et que la vascularisation locale est sans doute un facteur aggravant.

#### Références bibliographiques

Franck M., Bénard G., Fernandez X., Barbry S., Durand P., Lagan T. H., Monin G., Legault C., 1999. Journées de la Recherche Porcine, 31, 331-338.

Franck M., Monin G., Legault C., 2000a. Journée de la Recherche Porcine 32, 345-349.

Franck M., P. Figwer, Poirel M.T., Monin G., 2000b. Meat Science. 64, 351-355.

# CONTROLE DE LA TENDRETE DES VIANDES : MESURE DE LA LONGUEUR DES SARCOMERES PAR ACQUISITION D'IMAGE ET TRANSFORMÉE DE FOURIER

#### PEYRIN F., CORMIER D., LEPETIT J.

#### INRA, UR370 Qualité des Produits Animaux, 63122 Saint Genès Champanelle

#### Introduction

L'influence de la longueur des sarcomères sur la qualité de la viande a été mise en évidence par Locker (1960). Après chauffage, la dureté des viandes contractées au froid peut être multipliée par un facteur 3. Il apparaît également une contraction importante du muscle s'il est maintenu à température élevée après l'abattage d'un animal. Il faut trouver le meilleur compromis entre la nécessité de diminuer rapidement la température d'une carcasse pour limiter la croissance bactérienne et la nécessité de ne pas refroidir trop rapidement afin d'éviter la contraction au froid. Les conditions optimales retenues par exemple dans le cas du bovin sont d'atteindre 10°C en 10h (NF V46-001, décembre 1996, norme française AFNOR). Dans la pratique industrielle le phénomène de contraction au froid est fréquent, au moins pour les muscles superficiels, d'où la nécessité d'un contrôle de la longueur de sarcomère lorsqu'on étudie l'origine des variations de tendreté.

Concrètement, la détermination de la longueur de sarcomère peut être faite à partir d'une observation microscopique en comptant le nombre de sarcomères par unité de longueur. C'est une opération, longue et fastidieuse. Elle peut aussi être réalisée par diffraction d'une lumière monochromatique (souvent un Laser) sur un échantillon broyé après fixation dans du glutaraldéhyde. Dans ce cas, la mesure de la distance entre les arcs de diffraction obtenus sur un grand nombre d'échantillons peut être manuelle (Cross, 1980, Young, 1990) ou automatique (Gif 1995). Cette méthode nécessite l'emploi du glutaraldéhyde qui est un produit toxique et en plus ne donne qu'une information moyenne, représentative de l'ensemble des fibres musculaires formant le réseau de diffraction. Cette méthode n'est pas pertinente dans le cas de la caractérisation de fibres musculaires isolées. Cet article présente une méthode alternative de mesure permettant de répondre à ce cas de figure. Elle est basée sur l'acquisition d'images microscopiques et sur le traitement sur de ces images par Transformée de Fourier.

#### Matériel et méthodes

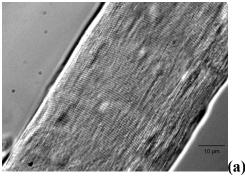
En analyse mathématique, la transformation de Fourier généralise la théorie des séries de Fourier aux fonctions non périodiques, et permet de leur associer un spectre en fréquences. En physique, cette transformation est utilisée en traitement du signal pour traiter des données temporelles et faire correspondre la variable Temps (période temporelle en secondes) et la Fréquence (en s<sup>-1</sup> ou Hz) grâce à la détermination du spectre du signal. D'autres domaines d'applications existent : les phénomènes de diffraction optique donnent directement une image du domaine fréquentiel du réseau, ils sont une sorte de « machine à Transformation de Fourier » naturelle. On associe alors par équivalence la variable Longueur (période spatiale en m) et la Fréquence Spatiale (en m<sup>-1</sup>). C'est le cas dans cet article où nous traitons l'image comme une matrice de données spatiales.

La prise d'image est réalisée à l'aide d'une caméra numérique noir et blanc (SONY SX-900UV 1,45 millions de pixels) montée sur un microscope (LEICA DMRM). La caméra connectée à un ordinateur via le port IEEE1394 est prise en charge par la boîte à outils « acquisition d'images » de MATLAB (MATtrix LABoratory), une application de la société Mathworks.

Une interface graphique « utilisateurs » a été développée qui permet d'entrer les paramètres de l'expérimentation, d'effectuer la visualisation vidéo pour le réglage du microscope et de la caméra, l'acquisition de l'image optimisée, son enregistrement ainsi que le traitement de l'image par Transformée de Fourier Rapide et l'analyse permettant de déterminer la longueur des sarcomères. Tous les paramètres de l'expérience ainsi que les résultats sont enregistrés sous forme de fichiers Excel.

## Résultats et discussion

Un calibrage de l'ensemble microscope et caméra est nécessaire pour établir une échelle sur les images dans le domaine spatial (en  $\mu$ m par pixel) et fréquentiel (en  $\mu$ m par pixel). Ce calibrage est effectué en pointant manuellement une mire micrométrique observée au microscope.



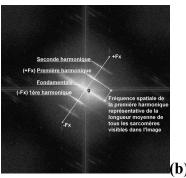
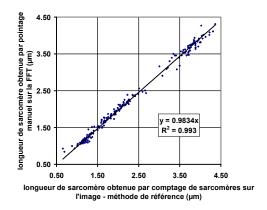


Figure 1 : fibre musculaire de diamètre 50μm environ : (a) image en microscopie optique en transmission et grossissement 40, (b) représentation de cette même image dans l'espace de Fourier : la distance entre la fondamentale et la première harmonique est représentative de la longueur moyenne de tous les sarcomères visibles.

Après plusieurs traitements de l'image de la représentation de la Transformée de Fourier (figure 1), une aide est fournie par le logiciel pour la détection des deux pics de première harmonique (+Fx et -Fx). Un système de validation par l'opérateur permet une correction éventuelle par pointage à l'aide de la souris. La longueur moyenne de sarcomère est obtenue par transformée de Fourier inverse ; elle est donnée en µm.



**Figure 2 :** Validation de la méthode de mesure par Transformée de Fourier. Comparaison avec la méthode de comptage sur l'image initiale.

La méthode a été validée (figure 2) en utilisant des fibres musculaires provenant du muscle *Semimembranosus*, cru et non congelé de vaches de réforme. Les différentes parties des muscles ont été aléatoirement soumis soit à contraction au froid, étirement ou réfrigération lente. Les fibres musculaires ont été extraites mécaniquement avec des pinces ultrafines sous une loupe binoculaire. Ces fibres ont un diamètre de l'ordre de  $50~\mu m$  et sont observées entre lame et lamelle à un grossissement de 40~sous microscope en lumière transmise. Les incertitudes systématiques et statistiques sont de l'ordre de  $0,10~\mu m$ . La figure 2 montre une étroite relation entre la méthode de mesure par transformée de Fourier et la méthode de comptage sur l'image initiale.

#### **Conclusions**

Cette méthode de mesure de la longueur des sarcomères par transformée de Fourier est aussi précise que la méthode par comptage manuel et beaucoup plus rapide. Elle permet d'analyser des fibres isolées ou des fibres broyées comme dans certaines applications industrielles et pourrait donc trouver sa place dans un système de contrôle de la qualité complétant ainsi d'autres mesures dont la mise en œuvre est déjà normalisée.

## Références bibliographiques

Cross H.R., West R.L., Duston T.R., 1980; Meat Science 5 (1980-81) 261-266. Gif P., Tournayre P., Culioli J., 1995; Viandes Prod. Carnés 16(2). Locker R. H., Food Research. 1960; 25:304-307. Young L.L., Papa C.M., Lyon C.B., Poultry Science. 1990; 69: 1800-1802.

#### Remerciements

Les auteurs remercient Etienne Dugourd et Cécile Berri pour leur participation à ce travail.

# Analyse protéomique appliquée à l'identification de la composition en protéines d'une préparation de muscle « crushed-muscle »

# PICARD B. 1, BARBOIRON C. 1, MINASSIAN L. 1, CHAZE T. 1, CASSAR-MALEK I. 1, BONNET M. 2

<sup>1</sup>UR1213 Unité de Recherche sur les Herbivores, équipe croissance et métabolisme du muscle, <sup>2</sup>équipe Tissu adipeux et lipides du lait, F-63122 Saint-Genès-Champanelle,

## Introduction

Les qualités sensorielles de la viande, en particulier la tendreté et la flaveur sont dépendantes des propriétés des principaux constituants du muscle, à savoir les fibres musculaires, le tissu conjonctif et les lipides intramusculaires. L'analyse de ces composantes dans différentes races bovines a montré que les races à viande, par rapport aux races laitières, ont des masses musculaires plus élevées avec des teneurs moindres en collagène et lipides intramusculaires. Les races rustiques sont intermédiaires (Schreurs et al. 2008). La proportion de fibres musculaires, de collagène et lipides intramusculaires, dépend en partie de la proportion de trois types cellulaires, les myofibres, les fibroblastes et les adipocytes. Cette proportion est un paramètre déterminant dans les qualités sensorielles de la viande. Aussi, une meilleure maîtrise de ces qualités implique de comprendre comment est régulé l'équilibre entre ces différents constituants et/ou types cellulaires. Pour cela des études sont conduites en particulier par des approches in vitro à partir de plusieurs modèles de co-cultures de myoblastes, avec des fibroblastes et des adipocytes (voir communication de Bonnet et al.). L'un de ces modèles consiste à incuber des adipocytes en différenciation en présence d'un extrait protéique ou « crushed muscle », préparé à partir d'un échantillon de Longissimus thoracis cisaillé. Cette incubation induit un retard de différenciation, évaluée par une différence dans l'accumulation de lipides dans les cellules adipeuses après une coloration au rouge à l'huile (Figure 1). Ceci pourrait résulter d'une reprise de la prolifération de cellules non différenciées induite par les facteurs de croissance sécrétés par le tissu musculaire lésé. Afin, de comprendre les mécanismes de régulation impliqués, nous avons choisi d'identifier les protéines présentes dans ce « crushed muscle » par une analyse protéomique (électrophorèse bidimensionnelle et spectrométrie de masse). A partir des protéines identifiées, nous pourrons émettre des hypothèses sur les mécanismes d'interactions cellulaires et moléculaires mis en jeu et les rôles paracrines des facteurs musculaires lors de la différenciation des adipocytes.

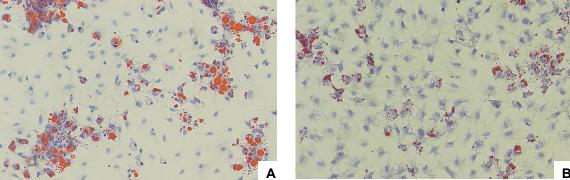


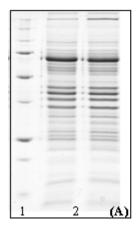
Figure 1: Effet de l'incubation d'adipocytes en differenciation en présence d'un extrait protéique ou « crushed muscle ». Coloration des lipides à l'huile rouge et des noyaux à l'hemalum de Mayer (bleu) des adipocytes en différenciation incubés en absence (A) ou en présence (B) de « crushed muscle ».

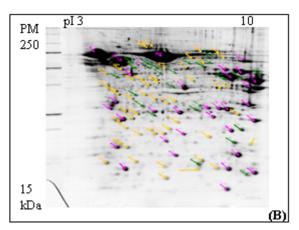
#### Matériels et méthodes

Le « crushed muscle » a été préparé à partir d'un échantillon de muscle *Longissimus thoracis* (LT) prélevé sur deux fœtus bovin de race Charolaise âgés de 260 jours. Après rinçage dans du tampon phosphate (PBS), le morceau de muscle a été écrasé et déstructuré à l'aide d'une pince puis incubé dans un tampon TBS : NaCl 0,9%, 50mM Tris, pH 7,6. Le tampon supplémenté en protéines sécrétées par le LT lésé, « crushed muscle » a été filtré (0,2 microns) et congelé.

Le « crushed muscle » préparé dans le tampon TBS est très enrichi en sels, ce qui est perturbant pour la séparation des protéines par électrophorèse bidimensionnelle. Afin d'éliminer les sels de ces échantillons, les protéines ont été précipitées dans de l'acétone à -20°C pendant une heure puis reprises dans un tampon adapté à l'électrophorèse bidimensionnelle : 8,3M Urée, 2M Thiourée, CHAPS 2%, Dithiotréitrol (DTT) 2% selon la technique décrite par Bouley et al, 2004. La quantification des protéines par la méthode de Bradford, avant et après précipitation, permet de vérifier un taux de récupération de 100% des protéines. La qualité des protéines contenues dans le « crushed muscle » a été testée et validée par électrophorèse monodimensionnelle en gel SDS-PAGE à 12% d'acrylamide (Figure 2A). Les protéines extraites ont été séparées par électrophorèse bidimensionnelle en utilisant un gradient de pH 3-10 non linéaire (Biorad) en première dimension et un gel SDS-PAGE à 12% d'acrylamide (C 2,6%) en seconde dimension selon le protocole de Bouley et al., 2004. Après coloration au bleu de Coomassie, les gels ont été scannés. Nous avons prélevé

108 spots répartis sur l'ensemble de la surface du gel (Figure 2B) pour une identification par spectrométrie de masse Maldi-Tof. La liste des protéines identifiées a été soumise à l'outil de « Gene Ontology » eGOn (<a href="http://www.genetools.microarray.ntu.no/common/intro.php">http://www.genetools.microarray.ntu.no/common/intro.php</a>) afin de préciser les fonctions biologiques et moléculaires dans lesquelles ces protéines sont impliquées.





**Figure 2** : Séparation des protéines du « crushed muscle » par électrophorèse mono- (A) et bi- (B) dimensionnelle. 1 : marqueur de poids moléculaire de 250 à 15 kDa ; 2 : échantillons de « crushed muscle »

#### Résultats et discussion

L'analyse par spectrométrie de masse a permis d'identifier de manière fiable 95 spots correspondant à 76 protéines différentes qui sont impliquées dans les fonctions biologiques décrites dans le tableau ci-dessous.

Fonctions biologiques	Proportion (%)
Processus métaboliques	28
Transport cellulaire	12
Développement structural	11
Développement	10
Processus développementaux	10
Réponse au stress	10
Métabolisme des glucides	7
Différenciation cellulaire	5
Réponse à une blessure	4
Mort cellulaire	3

Parmi les protéines susceptibles d'être impliquées dans l'augmentation du nombre de cellules non différenciées et dans la diminution du pourcentage de différenciation nous pouvons retenir les protéines impliquées dans la balance prolifération/apoptose telles que la superoxyde dismutase, la peroxiredoxine-2, l'alpha crystalline B ou les protéines impliquées dans le partage et/ou le métabolisme des nutriments tels que le glucose et les lipides comme la Triosephosphate isomérase, précurseur de l'Apolipoprotéine A-I, la glycérol-3-phosphate déshydrogénase.

#### Conclusion

Ce travail permet de fournir des données préliminaires sur les protéines musculaires susceptibles d'être impliquées dans la régulation de la prolifération et de la différenciation des cellules adipeuses. Cette approche permet l'accès à des protéines musculaires de type membranaires et sécrétées qui sont difficilement accessibles par les études du protéome global du muscle (Bouley et al, 2004). Ainsi, la carte protéique obtenue à partir de cette préparation de « crushed muscle » vient compléter la cartographie établie à 260 jours de vie fœtale regroupant essentiellement des protéines sarcoplasmiques, structurales et métaboliques (Chaze et al., 2008).

## Références bibliographiques

Chaze T., Meunier B., Chambon C., Jurie C., Picard B., 2008. Proteomics, sous presse.

Bouley J., Chambon C., Picard B., 2004. Proteomics. 4 (6), 1811-1824.

Schreurs N.M., Garcia F., Jurie C., Agabriel J., Micol D., Bauchart D., Listrat A., Picard B., 2008, Journal of Animal Science, sous presse.

## Remerciements

Les auteurs remercient A. Delavaud et M. Tourret pour leur assistance technique, ainsi que l'installation expérimentale et l'abattoir expérimental de l'URH pour la production des fœtus ainsi que l'atelier Protéomique de la Plateforme «Exploration du métabolisme : des gènes aux métabolites » de l'INRA de Clermont-Ferrand/Theix.

# EFFET DE L'ESPECE SUR L'EXPRESSION DES PROTEINES DE LIAISON CYTOSOLIQUE DES ACIDES GRAS (FABP H ET A) DANS LE MUSCLE *PECTORALIS MAJOR* DE CANARD

SAEZ G. 1,3, GENTES G. 2, HOCQUETTE J.F. 2, BAEZA E. 3

<sup>1</sup>IPREM-EEM, IUT des Pays de l'Adour, 371 rue du ruisseau, BP 201, 40000 Mont de Marsan, France <sup>2</sup>INRA, UR 1213 Herbivores, Site de Theix, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France <sup>3</sup>INRA, UR 83 Recherches Avicoles, F-37380 Nouzilly, France

#### Introduction

Au cours de l'engraissement intramusculaire, les lipides sont stockés dans les adipocytes musculaires et dans les fibres musculaires. Les triglycérides (TG) de ces lipides vont pouvoir être remobilisés pour fournir des acides gras qui pourront soit être oxydés soit être ré-estérifiés et stockés. Les acides gras à longue chaîne provenant de l'hydrolyse des TG intramusculaires et ceux captés dans la circulation sont pris en charge par des protéines de liaison cytosoliques (Fatty Acid Binding Protein, FABP) chargés de les rediriger vers les voies d'oxydation ou d'estérification. Parmi ces FABP, on trouve la FABP-A et la FABP-H, la première étant exprimée majoritairement dans les adipocytes, la seconde étant présente surtout dans les fibres musculaires. Chez les canards de Barbarie (Cairina moschata) et Pékin (Anas platyrhynchos), qui présentent des différences de niveaux d'engraissement intramusculaire, les lipides sont stockés principalement dans les adipocytes dont la surface relative sur coupes transversales est plus importante chez les canards Pékin maigres et gavés que chez les canards de Barbarie (Chartrin et al., 2004). De même, la quantité de lipides (surtout des TG) stockée dans le muscle Pectoralis major est supérieure chez le canard Pékin (Chartrin et al., 2004). La présence de transporteurs FABP dans le Pectoralis major a déjà été mise en évidence chez le canard de Barbarie par Bénistant et al. (1998). Dans ce contexte, le rôle potentiel des transporteurs FABP dans l'engraissement intramusculaire du canard nous semblait intéressant à étudier, d'autant plus que des études récentes chez des modèles de porcs (Damon et al., 2006) ou de bovins (Jurie et al., 2007) présentant des teneurs hautes ou basses en lipides intramusculaires ont révélé un lien entre ces deux transporteurs et la teneur en lipides intramusculaires. Une corrélation positive entre la quantité de FABP-A dans le muscle et la teneur en lipides a par exemple été observée. L'objectif de ce travail était donc d'étudier l'expression génique et la quantité des transporteurs FABP A et H dans le Pectoralis major des canards de Barbarie et Pékin soumis à différents régimes alimentaires (nourris ad libitum ou gavés).

#### Matériel et méthodes

De l'éclosion à l'âge de 6 semaines, des canards mâles de Barbarie et Pékin ont été nourris à volonté avec un aliment démarrage puis avec un aliment croissance. De 6 à 12 semaines, ils ont été rationnés (20% par rapport à l'alimentation ad libitum). A l'âge de 12 semaines, les canards ont été soit nourris ad libitum (6 par espèce), soit gavés durant 1 semaine (6 par espèce) ou 2 semaines (6 par espèce), avec des quantités d'aliment de gavage ingérés similaires entre les deux espèces de canards (Saez et al., 2008). Ces trois modalités n'ont pas pu être réalisées simultanément pour des raisons techniques. Pour chaque modalité, les animaux ont été sacrifiés par dislocation cervicale 2-4 h après le dernier repas afin que tous les canards aient des teneurs en métabolites plasmatiques (glucose, insuline, acides gras non estérifiés ...) comparables comme déterminé lors d'une étude préliminaire (résultats non présentés). A l'abattage, un échantillon de muscle Pectoralis major a été prélevé sur chaque canard. L'expression des transporteurs cytoplasmique d'acide gras (FABP A et H) a été mesurée par RT-PCR en temps réel à l'aide de séquences dérivées du génome du canard et la quantité de protéines par ELISA à l'aide d'anticorps anti FABP-A humaine et d'anticorps anti FABP-H bovine (Piot et al., 2000).

## Résultats et discussion

Pour chaque niveau d'alimentation (nourris *ad libitum*, gavés 1 semaine ou 2 semaines), nous avons analysé l'effet «espèce» sur l'expression et la quantité en protéines des FABP dans le muscle *Pectoralis major*.

Chez les canards nourris ad libitum, l'expression génique de FABP-A n'est pas influencée par l'espèce (Figure 1). Après 1 semaine de gavage, cette expression est supérieure chez le canard Pékin comparativement au canard Barbarie. La différence observée entre espèces n'est pas statistiquement significative (P = 0.08) après 2 semaines de gavage du fait d'un nombre insuffisant d'individus et d'une variabilité plus importante des résultats chez le canard Pékin. La quantité de protéines FABP-A (Figure 2) est supérieure (P < 0.001) chez le canard Pékin par rapport au canard de Barbarie et ce quel que soit le niveau d'alimentation. On observe également une tendance à l'augmentation de la quantité de cette protéine avec le temps de gavage. Ces résultats sont intéressants dans la mesure où la plus grande abondance de protéine FABP-A chez le canard Pékin, protéine dont le rôle dans l'anabolisme lipidique est connue (Hertzel et al., 2006), va dans le même sens que les différences d'engraissement intramusculaire entre les deux espèces de canard. On peut également noter que l'évolution de l'expression génique en fonction du niveau d'alimentation

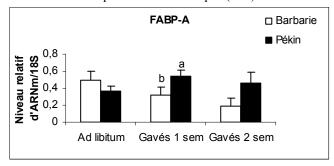
diffère entre les deux espèces. En effet, cette expression aurait tendance à augmenter avec le gavage chez le canard Pékin alors qu'elle aurait tendance à diminuer chez le canard de Barbarie.

Nous testons actuellement différents couples d'amorces pour étudier l'expression du gène FABP-H mais nous rencontrons quelques difficultés dues soit à des problèmes de spécificité des amorces soit à une très faible expression de ce gène dans le *Pectoralis major*. Afin de vérifier ces hypothèses, nous allons tester nos couples d'amorces sur du cœur de canard, tissu où s'exprime normalement ce gène. La quantité de protéines FABP-H (Figure 2) est similaire entre les deux espèces de canard et ce quel que soit le niveau d'alimentation. On observe toutefois une tendance à la diminution de la quantité de FABP-H après 1 semaine de gavage puis à une augmentation après 2 semaines de gavage chez le canard de Barbarie. A l'inverse, l'augmentation de la quantité de FABP-H est continue chez le canard Pékin avec le gavage. Ces tendances, qui restent à vérifier, ne nous semblent pas inattendues. En effet, avec le gavage, les acides gras transportés seront préférentiellement dirigés vers l'estérification puis vers l'oxydation en réponse à l'apport massif d'AG, et il est connu que la FABP-H oriente préférentiellement les acides gras vers les sites oxydatifs de la mitochondrie (Glatz *et al.*, 2003).

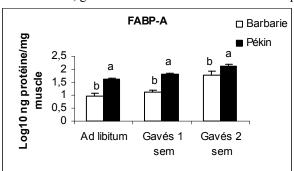
#### Conclusion

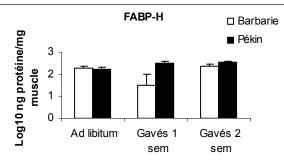
Dans cette étude, nous avons montré que les différences d'engraissement intramusculaire observées entre canards Pékin et canards Barbarie (Chartrin *et al.*, 2004) pouvaient être reliées à des variations de quantité de protéines FABP-A confirmant des résultats obtenus chez d'autres espèces comme le porc (Damon *et al.*, 2006) ou le bovin (Jurie *et al.*, 2007).

**Figure 1 :** Expression du gène FABP-A dans le muscle *Pectoralis major* de canards de Barbarie et Pékin nourris *ad libitum*, gavés 1 ou 2 semaines et abattus 2-4h après leur dernier repas (n=6).



**Figure 2 :** Quantité de protéines FABP-A et FABP-H dans le muscle *Pectoralis major* de canards de Barbarie et Pékin nourris *ad libitum*, gavés 1 ou 2 semaines et abattus 2-4h après leur dernier repas (n=6).





#### Références

Bénistant C., Duchamps C., Cohen-Adad F., Rouanet J.L., Barré H., 1998. Am. J. Physiol., 275, R683-R690.

Chartrin P., Schiavone A, Bernadet M.D., Guy G., Mourot J., Duclos M.J., Baéza E., 2004. 6<sup>ème</sup> Journée de la Recherche sur les Palmipèdes à Foie Gras, Arcachon, 49-52.

Damon M., Louveau I., Lefaucheur L., Lebret B., Vincent A., Leroy P., Sanchez M.P., Herpin P., Gondret F., 2006. J. Anim. Sci., 84, 1083-1092.

Glatz J.F.C., Schaap F.G., Binas B., Bonen A., van der Vusse G.J., Luiken J.J.F.P., 2003. Acta Physiol. Scand., 178, 367-371.

Jurie C., Cassar-Malek I., Bonnet M., Leroux C., Bauchart D., Boulesteix P., Pethick D.W., Hocquette J.F., 2007. J. Anim. Sci., 85, 2660-2669.

Piot C., Hocquette J.F., Herpin P., Veerkam J.H., Bauchart D., 2000. J. Nutr. Biochem., 11, 231-238.

Saez G., Baéza E., Davail S., Durand D., Bauchart D., Gruffat D., 2008. Br. J. Nutr., In press.

# POTENTIEL DE LA SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE POUR DISCRIMINER DIFFERENTS MUSCLES ET POUR PREDIRE CERTAINS PARAMETRES PHYSICO-CHIMIE DE LA VIANDE

# SAHAR A<sup>1</sup>., BOUBELLOUTA T<sup>1</sup>., LEPETIT J<sup>2</sup>., DUFOUR É<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>UR Typicité des Produits Alimentaires, ENITA Clermont, Clermont Université, Site de Marmilhat, BP 35 – 63370 LEMPDES

<sup>2</sup>INRA-QuaPA, site de Theix, 63122 Saint Genès Champanelle

#### Introduction

La spectroscopie de fluorescence donne des informations sur la présence de fluorophores et sur leur environnement dans les échantillons. Le spectre de fluorescence d'un produit est caractéristique et spécifique de ce produit et constitue une empreinte. Comme cela est pratiqué depuis longtemps dans le domaine de la spectroscopie infrarouge, il est envisageable d'appliquer des méthodes d'analyse statistique multidimensionnelle aux spectres de fluorescence pour extraire l'information pertinente et développer des méthodes de prédiction de la qualité des produits. Le principal objectif de cette étude est d'évaluer le potentiel de la spectroscopie de fluorescence pour identifier différents muscles et pour prédire certains de leurs paramètres physico-chimiques.

#### Matériels et méthodes

<u>Echantillonnage</u>: Soixante six échantillons provenant de 14 carcasses (15 jours de maturation) de génisses de race charolaise sur lesquelles ont été prélevés trois muscles - 'bavette de flanchet' ('B', n=24), 'rond de gîte' ('R', n=24), et 'paleron' ('P', n=18), ont été utilisés pour cette étude.

<u>Physico-chimie</u>: Les matières sèches des échantillons ont été déterminées par la méthode de référence (ISO 1442), les matières grasses par la méthode de Soxhlet (norme française V 04-403), les protéines par la méthode de Kjeldhal (ISO 937) et le collagène en mesurant l'hyroxyproline (ISO 3496). Les mesures ont été répétées trois fois sur des éprouvettes différentes pour chaque échantillon de muscle. Les mesures de texture ont été réalisées par la méthode de cisaillement selon la procédure décrite par Honikel [1]. Les paramètres suivants ont été déterminés, perte de poids (%), force maximale (N), déplacement à la force maximale (mm), énergie à la rupture (J) et contrainte maximale de cisaillement (N/cm²). Les mesures ont été répétées 10 fois sur des éprouvettes différentes pour chaque échantillon de muscle.

<u>Spectroscopie de fluorescence</u>: Les spectres de fluorescence ont été enregistrés au moyen d'un spectrofluorimètre FluroMax-2 (Spex-Jobin Yves, Longjumeau, France). Les spectres d'émission de résidus tryptophane des protéines (305-400 nm), de la vitamine A (340-540 nm) et de la riboflavine (410-700 nm) ont été enregistrés après excitation à des longueurs d'onde fixées à 290, 322 et 382 nm, respectivement. Les mesures ont été répétées deux fois sur des éprouvettes différentes pour chaque échantillon de muscle.

<u>Traitement statistique:</u> Les jeux de données ont été évalués par des méthodes chimiométriques telles la PLSDA – une méthode discriminante, et la PLS avec validation croisée - une méthode prédictive. Le logiciel MatLab (The Mathworks Inc., Natic, MA, USA) a été utilisé. Les routines mises en oeuvre sont accessibles à l'adresse suivante : http://easychemometrics.fr.

## Résultats et discussion

Les résultats (moyenne pour chaque muscle) des analyses physico-chimiques sont présentés tableau 1. Les données physico-chimiques diffèrent d'un muscle à l'autre permettant d'envisager une discrimination.

Muscle	n	Matières grasses %	Matières sèche %	Collagène %	Protéines %	Perte de poids (%)		Déplacement à force maximale (mm)	Energie à la rupture (J)	Cisaillement (N/cm²)
R	24	1,6	26,2	0,78	23,9	33,2	81,2	19,1	0,53	69,1
В	24	3,4	26,8	0,76	23,2	26,6	64,7	18,0	0,49	54,7
P	18	4,8	26,9	0,87	20,9	34,4	47,3	18,9	0,34	39,5

Tableau 1 : Résultats des analyses physico-chimiques réalisées sur les trois muscles : R= rond de gîte, B= bavette de flanchet, P= paleron (n=nombre d'échantillons).

Les spectres d'émission de résidus tryptophane des protéines montrent des maxima à environ 330-332 nm (Figure 1). Par ailleurs les spectres de la riboflavine sont caractérisés par un maximum à 468-470 nm, ainsi que par un autre pic de moindre intensité à environ 645 nm qui présente un épaulement à environ 598 nm (Figure 1). Les allures de ce

deuxième pic et de l'épaulement varient d'un échantillon à l'autre. Enfin, les spectres de la vitamine A montrent deux pics localisés à 467-469 nm et à 380-395 nm (Figure 1).

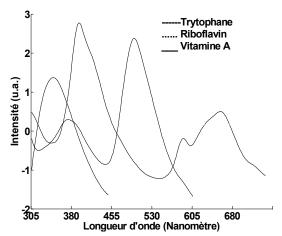


Figure 1 : Spectres d'émission de fluorescence de la viande : (- - -) tryptophane, (......) riboflavine, et (\_\_\_\_\_) vitamine Δ

Les résultats des analyses discriminantes (PLSDA) réalisées sur les données montrent des pourcentages de bonne classification de respectivement 100%, 97%, 91% et 95% pour les spectres du tryptophane, les spectres de la riboflavine, les spectres de la vitamine A et les paramètres physico-chimiques.

Les résultats de prédiction des paramètres physicochimiques au moyen de la régression PLS avec validation croisée appliquées sur les données de calibration des trois muscles R+B+P montrent une relativement bonne prédiction du collagène (R²C=0,91) à partir des spectres des tryptophanes, une prédiction relativement correcte de l'énergie à la rupture (R²C=0,55) et de la matière sèche (R²C=0,51) à partir, respectivement, des spectres de la riboflavine et de la vitamine A. Par contre les R²V pour ces paramètres présentent des valeurs très faibles (respectivement R²V=0,32, 0,15 et 0,26 pour les trois paramètres); indiquant la faible robustesse des modèles de prédiction (Tableau 2).

	Tryptophane et collagène					ène	Rik	oflavii	ne et énerg	gie à la	rupture		Vitamin	e A et ma	tière sè	che
Muscle	n	F	R <sup>2</sup> C	RMSEC	$R^2V$	RMSEV	F	R <sup>2</sup> C	RMSEC	$R^2V$	RMSEV	F	$R^2C$	RMSEC	$R^2V$	RMSEV
R+B+P	66	6	0,91	0,06	0,32	0,20	5	0,55	0,09	0,15	0,13	7	0,51	1,20	0,26	1,47
R	24	6	1.00	0,01	0,64	0,14	7	0,93	0,02	0,57	0,07	7	0,96	0,21	0,94	0,72
В	24	4	0,97	0,04	0,57	0,09	5	0,85	0,04	0,39	0,07	6	0,88	0,75	0,79	1,23
P	18	3	0,99	0,04	0,71	0,44	2	0,86	0,04	0,57	0,17	6	0,97	0,28	0,82	4,28

Tableau 2 : Régression PLS réalisée sur : (R+B+P) trois muscles ensemble et un seul muscle, R 'rond de gîte' B 'bavette de flanchet' et P 'paleron'. n= nombre d'échantillons, F= Nombre de facteurs PLS, R<sup>2</sup>C= Coefficient de détermination de calibration, RMSEC=Ecart type résiduel de calibration, R<sup>2</sup>V= Coefficient de détermination de validation croisée, RMSEV= Ecart type résiduel de validation croisée

Les régressions PLS ont également été réalisées sur des jeux de données de calibration et de validation ne renfermant que les données d'un seul muscle (R, B ou P). De meilleures prédictions ont été trouvées pour les taux de collagène de chacun des muscles (R, R²C=1 & R²V=0,64, B, R²C=0,97 & R²V=0,57, P, R²C=0,99 & R²V=0,71) à partir des spectres des tryptophanes. Enfin, les spectres de la riboflavine et de la vitamine A permettent de relativement bien prédire respectivement l'énergie à la rupture (Tableau 2).

#### Conclusion

La spectroscopie de fluorescence frontale couplée aux méthodes chimiométriques présente un potentiel important dans le développement de méthodes rapides et non destructives pour l'identification et la caractérisation des muscles. Cette méthode apparaît comme un bon outil pour l'identification des différents muscles; en particulier, les spectres des tryptophanes conduisant à 100% de bonne classification. Nos résultats montrent aussi le potentiel de la méthode à prédire les propriétés de texture des échantillons.

Par ailleurs, la PLS appliquée sur les données spectrales de calibration des trois muscles R+B+P donne en général de bons R²C, alors que les données de validation conduisent à des R²V généralement faibles ; suggérant des modèles peu robustes. Ce résultat est probablement la conséquence de la faible taille de la collection de données : il apparaît nécessaire d'augmenter le nombre d'individus entrant dans la constitution de la banque de données. A contrario, la PLS appliquée sur les données spectrales de calibration et de validation d'un seul muscle (R ou B ou P) donne en général de bons R²C et de bons R²V ; démontrant la robustesse des modèles de prédiction. Les différences structurales caractérisant les 3 muscles étudiés ne permettent pas de développer un modèle général. Par contre la constitution de banques de données spectrales par muscle est une piste que nous approfondissons en vue de développer des applications dans le domaine de la mesure rapide et non destructive de la qualité de la viande.

#### Références bibliographiques

[1] Honikel K.O., 1998. Meat Sci., 49, 447-457;

# MODELISER L'EVOLUTION DES ACTIVITES METABOLIQUES DANS LE MUSCLE BOVIN

SCHREURS N.<sup>1</sup>, GARCIA F.<sup>1</sup>, PICARD B.<sup>2</sup>, AGABRIEL J.<sup>1</sup>, JURIE C.<sup>2</sup>, MICOL D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Système de Production et <sup>2</sup>Croissance et Métabolisme du Muscle, UR1213, Unité de Recherches sur les Herbivores, INRA Theix, 63122 Saint Genès Champanelle, France.

Les caractéristiques musculaires telles que la proportion de chaque type de fibre, l'activité des enzymes du métabolisme et le contenu en collagène du muscle peuvent influencer la tendreté de la viande bovine. La teneur et la nature des lipides intramusculaires modifient aussi la tendreté et la flaveur. L'objectif du projet est de développer un modèle dynamique de l'évolution de ces caractéristiques musculaires chez le bovin. Le modèle global tiendra compte des effets muscle, race et sexe. Cette communication présente les modèles d'évolution des activités des enzymes isocitrate déshydrogénase (ICDH) et lactate déshydrogénase (LDH) représentatives, respectivement, du métabolisme musculaire oxydatif ou glycolytique des fibres musculaires.

#### Méthodes

Les résultats utilisés concernent des observations originales réalisées au sein de l'équipe « Croissance et Métabolisme du Muscle » de l'URH, sur des échantillons de muscle obtenus par biopsie ou à l'abattage dans 30 expérimentations au cours des vingt dernières années. La base de données utilisée rassemble 2591 observations d'activité ICDH et 2588 d'activité LDH pour 7 races bovines (Aubrac, Blonde d'Aquitaine, Charolaise, Limousine, Salers, Montbéliarde, Holstein), 3 sexes (mâle, femelle, castré) et 3 muscles (*Longissimus thoracis* (LT), *Semitendinosus* (ST) et *Triceps brachii* (TB)).

La modélisation des activités enzymatiques de ces muscles a été réalisée en deux étapes. 1°) une méta-analyse a été effectuée pour déterminer les facteurs impliqués dans l'évolution des activités enzymatiques dans le muscle (Schreurs et al., 2008). 2°) un modèle a été construit sur la base d'équations non linéaires dont les paramètres ont été ajustés pour différentes catégories de bovins. L'évolution des activités ICDH et LDH des muscles a toujours été analysée par rapport au degré de maturité physiologique de l'animal (poids vif/poids adulte) de sorte que différents types animaux puissent être considérés dans un état physiologique comparable.

La méta-analyse est réalisée pour tester les effets de la race, du sexe et du muscle sur l'évolution des activités ICDH et LDH avec l'âge physiologique (poids vif/poids adulte), représentant le degré de maturité. Elle a été réalisée indépendamment pour les mâles entiers d'une part et pour les femelles et castrés d'autre part, groupes de données dénommés ensuite « mâle » ou « non – mâle » car ils différaient trop par l'âge. Nous avons quantifié les effets des facteurs de production sur les caractéristiques des muscles en utilisant des modèles linéaires mixtes avec la procédure PROC MIXED de SAS/STAT Version 8 d'après la méthode décrite par St Pierre (2001).

A partir de cette méta-analyse, nous avons pu faire les hypothèses suivantes pour la constitution du modèle : (a) le même modèle peut être appliqué à tous les muscles et les types de bovins, (b) les valeurs différentes de paramètres représentent les évolutions différentes entre sexes et races, (c) les races peuvent être regroupées en races à viande et non-viande, (d) les sexes peuvent être regroupés en « mâles entiers» et « non - mâles » regroupant femelles et castrés. Des modèles non linéaires sont ajustés avec les équations suivantes :  $ICDH(t)=\alpha e-\beta t+\gamma t$  et  $LDH(t)=(\alpha-\delta+\beta t)e-\gamma t+\delta$ , où t est le degré de maturité.  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  et  $\gamma$  sont les paramètres de la courbe.

#### Résultats

## Méta-analyse

Les activités enzymatiques sont différentes pour chaque muscle (P<0,001) (Tableau 1). Le sexe influence l'activité ICDH dans tous les muscles (P<0,05) et LDH dans le muscle ST (P<0,01). La race a un effet sur ICDH et LDH dans les muscles ST et TB chez les mâles. Pour les jeunes mâles, l'activité ICDH a eu une évolution quadratique et l'activité LDH a eu une évolution cubique par rapport à l'âge physiologique. L'évolution est linéaire pour les femelles âgées (vaches) ce qui souligne l'arrêt des processus d'évolution, et l'atteinte d'un plateau. Le niveau de ce plateau permet de concevoir ce processus comme continu quels que soient le sexe et le muscle.

#### Modèle

L'ajustement du modèle est présenté uniquement pour le muscle ST. L'activité ICDH (Figure 1A) modélisée diminue régulièrement avec le degré de maturité puis atteint un minimum entre 1 et 1,5  $\mu$ mol·min<sup>-1</sup>·g<sup>-1</sup> de tissu frais. Cette diminution d'activité oxydative est plus rapide chez les animaux de race à viande que chez les animaux de race laitière ou rustique. La race modifie en effet le paramètre  $\beta$  du modèle dans le muscle ST, ce qui induit des variations dans le jeune age. Pour le modèle LDH (Figure 1B), le sexe modifie le paramètre  $\gamma$  qui est surtout impliqué dans l'évolution de

l'activité enzymatique à la puberté. Par contre, la race modifie le paramètre  $\beta$ , qui module l'activité LDH dans le muscle ST (P<0,05) dans le jeune âge (degré de maturité inférieur à 0,3).

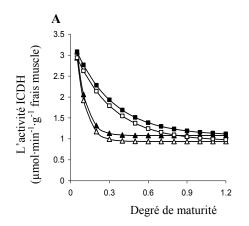
Plus généralement, les deux modalités du sexe modifient surtout les paramètres qui influencent les évolutions après puberté. Pour les paramètres qui influencent les équations avant puberté la précocité entre race (Viande ou Non-viande) est l'effet principal.

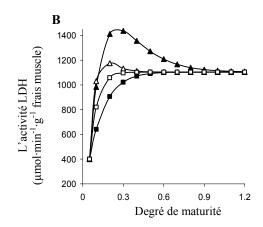
**Tableau 1.** Moyennes ajustées (± SEM) des activités enzymatiques (ICDH, LDH) des muscles LT, ST, TB avec le degré de maturité (DoM) pour des bovins mâles et non-mâles (femelles + castrés).

Moyenne Ajustée (LSM)		1		Mâles	Non-mâles		
		n	ICDH <sup>2</sup>	LDH 2	ICDH	LDH	
Longissimus thoracis		277-519	$1.8 \pm 0.1$	b 1 050 ± 54	$1.8 \pm 0.2$	1 004 ± 75	
Semitendinosus		187-571	1.6 ± 0.1	1 078 ± 54	1.3 ± 0.2	1 095 ± 76	
Triceps brachii		72-157	$2.5 \pm 0.1$ a	b 1 014 ± 58	$2.4 \pm 0.2$	c 955 ± 75	
Effets fixes	DoM		*	***	NS	NS	
	muscle		***	***	***	***	
	DoM * muscle		***	***	NS	NS	

Dans une colonne, les moyennes sans lettre commune sont significativement différentes (P < 0.05)

Figure 1. Modèles d'évolution des activités ICDH (A) et LDH (B) dans le muscle semitendineux (ST) pour des mâles de races à viande ( $\blacktriangle$ ), des mâles de races laitière ou rustique ( $\blacksquare$ ), des femelles et des castrés de race à viande ( $\triangle$ ) et des femelles et des castrés de races laitière ou rustique ( $\square$ ).





#### Conclusion

La méta-analyse a montré que les effets âge, muscle, castration et race influencent les caractéristiques musculaires. Le type de muscle semble avoir une plus grande influence sur l'évolution des caractéristiques musculaires que le sexe ou la race. Ces résultats nous ont permis de poser les hypothèses de développement d'un modèle de prédiction de l'évolution des activités ICDH et LDH dans le muscle bovin. En particulier, cette démarche donne des informations sur le type d'équation à utiliser dans le modèle et sur les catégories pour lesquelles des paramètres différents doivent être estimés (Mâle versus Non-mâle par exemple). Les prochains travaux doivent permettre de tester et valider ce modèle. La même démarche sera appliquée aux teneurs en collagène et en lipides intramusculaires.

#### Références

St-Pierre, N.R., 2001. J. Dairy Sci., 84, 741-755. Schreurs et al., 2008. J. Animal Sci., in press.

NS = non significatif, \* = P < 0.05, \*\* = P < 0.01, \*\*\* = P < 0.001

Le nombre d'échantillons utilisés pour la métaanalyse est indiqué comme une gamme car certaines caractéristiques musculaires ont plus d'observations que les autres

1 -1 -1

ICDH = activité de l'isocitrate déshydrogénase (μmol·min · g de muscle frais), LDH = activité de la lactate déshydrogénase (μmol·min · g de muscle frais)

# Conférences invitées Hygiène et Sécurité

# EVOLUTION DES RISQUES SANITAIRES : CAMPYLOBACTER ET SALMONELLES

# SALVAT G.¹, CHEMALY M.¹, DENIS M.¹, ROBINAULT C.¹, HUNEAU A.², LE BOUQUIN S.², MICHEL V.²FRAVALO P.¹

# AFSSA-LERAPP <sup>1</sup>Unité HQPAP, <sup>2</sup>Unité EBEAC B.P. 53 22440 PLOUFRAGAN, France.

#### Introduction

Parmi les agents à l'origine des nombreuses toxi-infections alimentaires (TIA), *Campylobacter* et *Salmonella* sont, dans de nombreux pays, les deux premières causes recensés (EFSA,2007). La France ne constitue pas une exception, puisqu'une étude récente sur la morbidité et la mortalité dues aux TIA (INVS, 2003) a montré que *Salmonella* intervenait pour environ 30 000 à 40 000 cas par an dont environ 5 700 à 10 000 nécessitant une hospitalisation et 92 à 535 cas conduisant au décès du patient (Vaillant *et al.*, 2005).

De même, les TIA à *Campylobacter* entraîneraient environ 13 000 à 17 000 cas par an dont environ 2 500 à 3 500 nécessiteraient une hospitalisation et 13 à 18 cas conduiraient au décès du patient (Vaillant *et al.*, 2005).

De tels chiffres sont évidemment préoccupants et il est essentiel de mettre en œuvre des moyens de lutte appropriés contre ces maladies alimentaires.

Les pays membres de l'Union Européenne s'y emploient en mettant en œuvre un règlement (2160/2003/EC) (EU, 2003) et une directive (99/2003/EC) (EU, 2003) qui prévoient de déployer respectivement un dispositif de lutte et de surveillance contre les maladies alimentaires d'origine animale.

Cependant, si le dispositif de lutte ciblé pour l'heure sur *Salmonella* s'appuie sur des bases épidémiologiques solides pour proposer des mesures de lutte efficaces, les connaissances en matière de *Campylobacter* rendent plus difficile la formulation d'un plan de maîtrise efficace.

Cet article se propose de faire la synthèse des moyens mis en œuvre dans la lutte contre les salmonelles et de dresser un premier bilan de leur efficacité et de faire le point sur les connaissances et les lacunes en matière de lutte contre les campylobactérioses humaines.

## Salmonella

Le règlement CE 2160/2003 déclinant les mesures de lutte (contre *Salmonella*) à mettre en place par les états membres prévoit la réalisation d'enquêtes de prévalence avant son application par les différents états membres.

Les enquêtes de prévalence européennes qui ont successivement intéressées les poules pondeuses, les poulets de chair, les dindes (reproduction et production), les porcs charcutiers et cette année les porcs reproducteurs ont permis de dresser un panorama complet de la situation européenne dans les productions avicoles et porcines. Le tableau 1 dresse le bilan des enquêtes actuellement achevées dans les différents types de production en France et en Europe.

Tableau 1 : Prévalence des salmonelles en France (Europe) dans les productions avicoles et porcines (EFSA, 2004, 2007, 2008)

	Salmonella spp.	S. Enteritidis	S. Typhimurium	S. Derby
Pondeuses	17,2 % (30,8 %)	3,9 % (18,3%)	4,3 % (2,6 %)	
Poulets de chair	6,2 % (23,7 %)	0,2 % (10,9 %)	0,1 % (0,5 %)	/
Dindes reproductrices	1,6 % (13,6 %)	0,5 %	% (1,7 %)	0% (7.5%)
Dindes chair	13,3 % (30,7 %)	3,8 % (3,8 %)		3,9 % (11,3%)
Porcs (noeuds Lymphatiques).	18,5 % (13,9 %)	/	7,7 % (5,6 %)	6,5 % (2 %)
Porcs (carcasses)	18,6 % (6,7%)	/	8,2 % (3,3 %)	6,5 % (1,6 %)
Porcs (sérologie)	10 %*(nd)	/	/	/

Examen sur jus de viande pour une valeur de seuil de 40%

nd : non disponible, les mesures entre Etats Membres n'étant pas comparables.

/ : non documenté

L'examen de la situation sanitaire de la production française de volailles la situe dans le peloton de tête des nations européennes grosses productrices. Des progrès restent cependant à mettre en œuvre dans les filières œufs et dindes même si ces dernières ont des résultats sanitaires satisfaisants pour les deux principaux sérovars responsables de TIA, S. Enteritidis (SE) et S. Typhimurium (ST).

Concernant la filière porcine, la situation est beaucoup plus contrastée puisque les résultats enregistrés par la France ne la mettent pas aux premiers rangs des pays fortement producteurs, dont elle fait partie.

Cette différence entre les filières volailles et porcs peut être expliquée par le fait que des réglementations nationales successives en matière de lutte contre les salmonelles ont été appliquées depuis 1982 en France dans la filière volailles, alors que la contamination de la filière porcine par *Salmonella* demeure un sujet de préoccupation plus récent qui n'a pas fait l'objet d'une réflexion réglementaire spécifique pour le moment.

L'impact sur les salmonelloses humaines de la réglementation mise en place de façon obligatoire depuis 1998 dans la filière *Gallus gallus* reproducteur et ponte a été récemment évalué par l'Institut de Veille Sanitaire (Poirier *et al.*, 2008). Cette étude souligne que la mise en place d'une réglementation spécifique en 1998, s'est traduite par une baisse de 33 % d'isolement de salmonelles humaines avec une réduction annuelle de 21 % pour SE et 18 % pour ST

Cette réduction particulièrement marquée pour SE est le reflet de l'efficacité du plan de lutte mis en œuvre mais aussi de la forte association entre les TIAC à SE et la consommation d'œufs. Concernant la filière porcine, même s'il est nécessaire de réduire la contamination des troupeaux au moins pour des raisons commerciales, son impact sur les TIAC est vraisemblablement moindre du fait de son mode de consommation (viande consommée bien cuite).

Concernant les facteurs de risque associés à la présence de salmonelles, les enquêtes de prévalence ont permis d'en dresser un bilan actualisé (Tableau 2) pour les poules pondeuses et les poulets de chair.

Tableau 2 : Facteurs de risque Salmonella en filière ponte et chair (RR : risque relatif ; IC : Intervalle de confiance) (AFSSA, 2006, 2007)

	Facteur	% S+	RR (IC 95%)
	Tailles exploitation		
	≥ 30 000	37,5 %	2,0 (1,3-3,0)
	< 30 000	12,5 %	1,0
	Type d'élevage		
	Cage	30,8 %	3,5 (2,1-6,0)
Poules	Sol	7,9 %	1,0
	Localisation		
	Rhône Alpes	37,1 %	3,0 (1,7-4,5)
	Reste France	16,5 %	1,0
	Passage camions devant		
	SAS ou entrée d'air		
	Oui	19,6 %	1,7(1,1-2,9)
	Non	14,2 %	1,0
	Démontage Matériel lors de		
	la désinfection		
	Oui	7,4 %	0,3 (0,2-0,5)
	Non	15,2 %	1,0
	Présence d'un bac		
	d'équarrissage		
Poulets	Oui	6,8 %	1,0
	Non	16,2 %	2,0 (1,1-3,6)
	Intervention de voisins lors		
	de la mise en place		
	Oui	12,2 %	2,3 (1,3-4,0)
	Non	8,2 %	1,0
	Acidification de l'eau		
	Oui	7,7 %	1,0
	Non	10,2 %	2,7 (1,3-5,8)

Si le mode d'élevage (cage/sol) et la taille des exploitations restent parmi les facteurs de risque essentiels en poules pondeuses, on constate que la plupart des autres facteurs de risque concernent les mesures de biosécurité et leur application.

Les données analytiques relatives aux enquêtes dindes et porcs ne sont actuellement pas disponibles. Cependant, pour ce qui concerne les facteurs de risque de la présence de *Salmonella* en élevage de porc, de précédentes enquêtes (Beloeil *et al.*, 2004) ont permis d'établir les facteurs de risque suivants (tableau 3) :

Tableau 3 : Facteurs de risque d'excrétion de Salmonella par les porcs charcutiers en élevage (Beloeil et al., 2004)

Facteurs	% S+	RR (IC 90%)
Vidange de la fosse sous les caillebotis après l'enlèvement		
des truies		
Oui	24,3 %	1
Non	42,6 %	1,9 (1,1-3,7)
Fréquence d'enlèvement du fumier sous les truies pendant		
la lactation		
2 fois/jour ou plus	26,9 %	1
1 fois/jour ou moins	45,3 %	2 (1,2-3,1)
Salle d'engraissement positive avant la mise en place du lot		
Oui	51,4 %	2 (1,2-3,2)
Non	28,6 %	1
Type d'alimentation en engraissement		
Soupe	26,1 %	1
Sèche	52,5 %	2 (1,2-3,2)
Séroconversion à Lawsonia intracellularis durant la 2ème		
moitié de l'engraissement		
Oui	48,4 %	2 (1,2-3,3)
Non	31,1 %	1
Séropositivité SDRP en fin d'engraissement		
Oui	47,9 %	2 (1,2-3,4)
Non	26,3 %	1

Les facteurs de risque décrits dans le tableau 3 relèvent essentiellement de la biosécurité, de la qualité de la conduite de troupeau et de l'état de santé général du troupeau. Une autre étude (Beloeil *et al.*, 2007) concernant les facteurs de risque de la séroconversion des porcs a montré, outre les facteurs précédemment décrit que l'administration d'un traitement antibiotique de groupe lors de la phase d'engraissement constituait un risque supplémentaire (RR : 2,4 ; IC 95%: 1,7-3,4).

Là encore, les mesures d'hygiène générale dans la conduite du troupeau restent essentielles pour améliorer la maîtrise de l'infection par *Salmonella*.

L'application de ces règles de base de biosécurité est l'une des clés de la « charte sanitaire » volontaire à laquelle les éleveurs de poules pondeuses adhèrent massivement pour accéder aux indemnisations à l'abattage prévues par le Ministère de l'Agriculture en cas de positivité des troupeaux de ponte et des reproducteurs. Il est vraisemblable que l'adaptation de l'esprit de ce texte à l'élevage porcin permettra d'entamer une démarche de progrès afin de diminuer la prévalence de *Salmonella* dans la filière porcine.

#### Campylobacter

Si les campylobactérioses ne constituent en France que la 2<sup>ème</sup> cause de TIA (Vaillant *et al.*, 2005), *Campylobacter* est l'agent zoonotique ayant la plus forte incidence en Europe (EFSA, 2007). Ainsi, 176 016 cas de campylobactérioses ont été recensés en 2006 (contre 167 241 cas de salmonelloses (EFSA, 2007). Pour autant, la réglementation européenne ne prévoit pour l'instant pas de dispositif de maîtrise des *Campylobacter* dans les espèces animales ni de critère microbiologique concernant ce micro-organisme (2073/2005/EC) (EU, 2005). Seule, la directive 2003/99/EC prévoit la surveillance de *Campylobacter* dans les filières animales. A ce titre, une enquête de prévalence sur les volailles et les carcasses de volailles est actuellement en cours.

#### Origine des campylobactérioses humaines :

Parmi les sources potentielles de campylobactérioses humaines, les viandes de volailles restent les principales incriminées (EFSA, 2007) même si les viandes de porcs et de bovins (EFSA, 2007) peuvent constituer des sources potentielles de *Campylobacter* (tableau 4).

Tableau 4 : Contamination par *Campylobacter* des viandes de volaille, de porc et de bœuf en Europe (Années 2002-2006) (EFSA, 2007)

	2006	2005	2004	2003	2002
Poulets	34,6 %	30,5 %	37,8 %	35 %	30,2 %
Porcs	0,7 %	0,3 %	1,6 %	1,2 %	1,4 %
Bovins	0,7 %	0,9 %	0,6 %	0,3 %	0,3 %

Les contaminations élevées des viandes de volailles sont le reflet d'une prévalence élevée chez les volailles vivantes mais sont aussi liées à la technique d'abattage et à la présence de la peau sur de nombreux produits de volailles. En effet, les contaminations au cours de l'éviscération sont en partie responsables de la souillure des carcasses de volailles commercialisées (EFSA, 2004). La prévalence est elle aussi élevée chez les porcs vivants (Payot et al., 2004; Wehebrink et al., 2008) mais d'une part elle est essentiellement due à Campylobacter coli dont l'importance est moindre dans les contaminations humaines et d'autre part, la technologie d'abattage des porcs notamment le flambage, permet un abattement significatif du nombre de carcasses contaminées (Wehebrink et al., 2008). Les données disponibles pour les bovins font état d'une faible contamination des troupeaux et des viandes. Concernant l'origine des cas humains de campylobactérioses, les faisceaux de présomption qui entourent les viandes de volailles (AFSSA, 2004) ont été confirmés par une étude récente (Denis et al., 2008) qui a comparé les profils génétiques des souches humaines et issues de volailles et de porcs dans un bassin de contamination.

Pour autant, les volailles ne sont pas les seules incriminées dans les campylobactérioses. Ainsi, l'eau, le lait ou le contact avec les animaux de compagnie contaminés peuvent être à l'origine de la maladie chez l'homme (EFSA, 2004). Une récente enquête cas-témoins en France (Gallay *et al.*, 2008) a montré que la consommation de viande bovine insuffisamment cuite (OR: 2,86), le fait de manger au restaurant (OR: 2,20) ou une hygiène insuffisante des ustensiles de cuisine (OR: 2,12) constituaient des facteurs de risque significatifs de campylobactériose chez l'homme. Par ailleurs, une incidence plus grande de campylobactériose liée aux repas consommés le week-end a été démontrée (Gillespie *et al.*, 2008) ce qui tendrait à montrer les risques liés aux repas festifs, barbecues... durant la préparation desquels les conditions d'hygiène peuvent être précaires.

Si l'introduction d'une matière première contaminée en cuisine constitue la porte d'entrée des agents responsables des campylobactérioses humaines, les manipulations des produits incriminés dans des conditions d'hygiène insuffisantes contribuent à la dissémination des *Campylobacter* dans les aliments après le traitement thermique et à la recontamination de ceux-ci. Les modèles d'évaluation quantitative du risque *Campylobacter* soulignent le rôle de l'hygiène en cuisine parmi les causes d'exposition du consommateur (Rosenqvist *et al.*, 2003). Par ailleurs, des travaux récents ont montré que le transfert de *Campylobacter* de la peau de poulet vers les surfaces de travail en cuisine étaient possibles à des taux non négligeables (de 0,05 % à 36 %) (Fravalo *et al.*, 2008), ainsi que vers les mains des utilisateurs (2,9 % à 3,8 %) (Luber *et al.*, 2006).

Il apparaît donc qu'une réduction de 2 Log du nombre de *Campylobacter* présents sur les carcasses est un objectif essentiel, qui aurait des conséquences positives sur la réduction de l'exposition du consommateur (Lindqvist et Lindblad, 2008; Brynestad *et al.*, 2008; Rosenqvist *et al.*, 2003).

Prévention de la contamination des volailles par Campylobacter :

Si les objectifs d'éradication des *Campylobacter* dans les filières animales restent illusoires dans l'état actuel des connaissances, la réduction de l'excrétion par les animaux avant l'abattage qui aurait pour conséquence une réduction de la contamination des carcasses, est par contre envisageable. Plusieurs stratégies ont été évaluées à cet effet :

- Le traitement ou la prévention de la colonisation par l'administration de bactériophages (Wagenaar *et al.*, 2005) : cette intervention prometteuse (réduction de 1 à 2 Log de l'excrétion) se heurtera au problème de la sélection potentielle de mutant résistant.
- La vaccination (de Zoete *et al.*, 2007): Peu de développement sont actuellement en cours sur le sujet, l'efficacité des vaccins reste pour l'instant hypothétique.
- L'utilisation de probiotiques, prébiotiques, bactériocines a été envisagée par de nombreuses équipes (Willis et Reid, 2008 ; Morishita *et al.*, 1997) avec des résultats parfois convaincants.
- La supplémentation de l'aliment avec des acides organiques (Chemaly et al., 2007 ; Solis de los Santos *et al.*, 2008 ;) et notamment l'acide caprylique semble prometteuse (3 à 4 Log de réduction).
- Enfin, le développement de flores de barrières spécifiques (Laisney *et al.*, 2004) pourrait constituer une piste d'investigation.

L'ensemble de ces stratégies demande cependant a être confronté à l'épreuve du terrain pour s'assurer de leur efficacité. En l'attente, la meilleure prévention de la contamination des élevages par *Campylobacter* reste la mise en place de mesures renforcées de biosécurité à l'entrée des élevages (Refregier-Petton *et al.*, 2001).

La réduction de la contamination des carcasses par *Campylobacter* à l'abattoir, outre l'application de mesure d'hygiène passe par une réfrigération précoce dans des conditions de faible hygrométrie. En effet, *Campylobacter* étant sensible à la dessiccation, il est possible de réduire de 0,5 à 0,8 Log le niveau de contamination des carcasses par l'application d'un ressuyage en hygrométrie contrôlée à 80 % (Salvat, résultats non publiés). Une autre méthode pour réduire l'activité de l'eau à la surface de la carcasse est la congélation qui permet d'obtenir une réduction décimale de *Campylobacter*. Cette technique est utilisée par le Danemark et la Norvège dans leur plan de maîtrise des *Campylobacter* (EFSA, 2007). Enfin, l'une des stratégies possible mais actuellement interdite en Europe reste la décontamination des carcasses (Salvat *et al.*, 1997; Refrégier-Petton *et al.*, 2003).

#### Conclusion

La prophylaxie des salmonelles dans les filières animales est désormais bien établie (filière avicole) ou le sera très prochainement (filière porcine) et repose sur des connaissances épidémiologiques solides.

Il n'en est pas de même pour Campylobacter dont la physiologie et l'épidémiologie sont actuellement moins bien connues et pour lequel les stratégies de lutte seront vraisemblablement moins ambitieuses et feront appel à des solutions scientifiques et techniques différentes, ne visant pas à l'éradication mais à la diminution de l'émission du microorganisme dans la chaîne alimentaire.

## Références bibliographiques

AFSSA, 2004. Appréciation des risques alimentaires liés aux Campylobacters : Application au couple poulet / Campylobacter jejuni. 96p.

AFSSA. 2006. RAPPORT FINAL. Décembre 2006. Convention AFSSA/DGAl S 04/14. 71p

AFSSA. 2007. RAPPORT FINAL. Décembre 2007. Convention AFSSA-DGAL S 05/32, 62p.

Brynestad, S. Braute, L. Luber, P. Bartelt, E. 2008. Int. J. Risk Assessment and Management. 8(3), 194-213

Beloeil, P.-A., Fravalo, P. Fablet, C. Jolly, J.-P. Eveno, E. Hascoet, Y. Chauvin, C. Salvat, G. Madec, F. 2004. Prev. Vet. Med. 63(1-2), 103-120.

Beloeil, P.A. Chauvin, C. Proux, K. Fablet, C. Madec, F. Alioum, A. 2007. Vet. Research. 38(6), 835-848.

Denis, M. Chidaine, B. Laisney, M.-J. Kempf, I. Rivoal, K. Mégraud, F. Fravalo, P. 2008. Path. Biol. In press.

de Zoete, M.R. van Putten, J.P.M. Wagenaar, J.A. 2007. Vaccine. 25(30 spec. Issue), 5548-5557.

Chemaly M., Lalande F., Quéguiner M., Fravalo P. 2007. CHRO. V 54, supplement 1, p. 139.

EFSA. 2004. The EFSA Journal (2004) 177 1-10

EFSA, 2007. The EFSA Journal (2007) 98, 1-85.

EFSA, 2007. The EFSA Journal 2007 – 351.

EFSA, 2007. The EFSA Journal (2007) 97.

EFSA, 2008. The EFSA Journal (2008) 135, 1-111

EFSA. 2008. The EFSA Journal (2008) 134, 1-91

EU, 2003. DIRECTIVE 2003/99/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 17 November 2003 on the monitoring of zoonoses and zoonotic agents, amending Council decision 90/424/EEC and repealing Council Directive 92/117/EEC. Official Journal of the European Union. 12/12/2003.

EU, 2003. REGULATION (EC) No 2160/2003 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 17 November 2003 on the control of salmonella and other specified food-borne zoonotic agents. Official Journal of the European Union. 12/12/2003.

EU, 2005. COMMISSION REGULATION (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. Official Journal of the European Union. 22/12/2005.

Fravalo P., Laisney M.J., Gillard M O, Salvat G., Chemaly M. 2008, Soumis au J. Food Protect. (disponible auprès de

Gallay, A. Bousquet, V. Siret, V. Prouzet-Mauléon, V. De Valk, H. Vaillant, V. Simon, F. Le Strat, Y. Mégraud, F. Desencios, J.-C. 2008, J. infect. Diseases, 197(10), 1477-1484.

Gillespie I.A., OBrien S.J., Neal K.R., Frost J.A., Cowden J.M. Syed, Q. 2005. J. Infection. 50(3). 265-267.

InVS, juin 2003. Morbidité et mortalité d'origine alimentaire, tome I. Réalisé dans le cadre d'une collaboration avec l'AFSSA

Laisney M.J., Gillard M.O., Salvat G. 2004. British Poult. Sci. 45(1), 49-54.

Lindqvist, R. Lindblad, M. 2008. Int. J. Food Microb. 121(1), 41-52.

Luber, P. Brynestad, S. Topsch, D. Scherer, K. Bartelt, E. 2006. Appl. Env. Microb. 72(1), 66-70.

Morishita, T.Y. Aye, P.P. Harr, B.S. Cobb, C.W. Clifford, J.R. 1997. Avian Diseases. 41(4), 850-855.

Payot, S. Dridi, S. Laroche, M. Federighi, M. Magras, C. 2004. Vet. Microb. 101(2), 91-99.

Poirier E., Watier L., Espié E., Weill F.X., deValk H., Desenclos J.C. 2008 Epidem. Infect. 136 (9) 1217-1224.

Réfrégier-Petton J., Rose N. Denis M., Salvat G. 2001 Prev. Vet. Med. 50(1-2), 89-100.

Refrégier-Petton, J. Kemp, G.K. Nebout, J.M. Allo, J.C. Salvat, G. 2003. Brit. Poult. Sci. 44(5), 790-791

Rosenqvist, H. Nielsen, N. L., Sommer, H. M., Norrung, B., Christensen, B.B. 2003. Int. J. Food Microb. 83(1), 87-103.

Solis De Los Santos, F. Donoghue, A.M. Venkitanarayanan, K. Reyes-Herrera, I. Metcalf, J.H. Dirain, M.L. Aguiar, V.F. Blore, P.J. Donoghue, D.J. 2008. Applied Env. Microb. 74(14), 4564-4566.

Vaillant V., deValk H., Baron E., Ancelle T., Colin P., Delmas M.C., Dufour B., Pouillot R., Le Strat Y., Weinbreck P., Jougla E., Desenclos J.C. 2005. Foodboren Path. Disease. 2(3), 221 232.

Wagenaar, J.A. VanBergen, M.A.P. Mueller, M.A. Wassenaar, T.M. Carlton, R.A. 2005. Vet. Microbiol. 109(3-4), 275-

Wehebrink, T. Kemper, N. Beilage, E.G. Krieter, J. 2008. Berliner and Munchener Tierart. Woch. 121(1-2), 27-32. Willis W.L., Reid L. 2008, poultry Sci. 87(4), 606-611.

#### « PROCEDES DE BIO-PRESERVATION »

# GARRY P.1, CHRISTIEANS S.2, CARTIER P.3

<sup>1</sup>IFIP – Institut du porc, 7 avenue du Général de Gaulle 94700 Maisons-Alfort.

<sup>2</sup>ADIV, ZAC Parc Industriel des Gravanches 10, rue Jacqueline Auriol 63000 Clermont-Ferrand

<sup>3</sup>Institut de l'élevage, Route d'Epinay 14310 Villers-Bocage

#### Introduction

La biopréservation ou bioprotection est une méthode de conservation des aliments faisant appel à des microorganismes ou des à «composés naturels» en opposition à l'utilisation de conservateurs dits « chimiques » classiquement utilisés dans les IAA. Cette thématique a fait l'objet de nombreux travaux ces deux dernières décennies.

La bioconservation, comme toute autre méthode de conservation doit permettre non seulement de maîtriser la croissance de flores pathogènes ou d'altération, mais également de préserver les qualités organoleptiques et nutritionnelles du produit tout au long de sa durée de vie.

Il existe différentes voies permettant la biopréservation. Ainsi, il est possible d'utiliser des micro-organismes tels que les bactéries lactiques. Ce procédé est connu depuis longtemps puisqu'il est traditionnellement utilisé pour la conservation des aliments au travers de la fabrication des produits fermentés (saucissons, fromages, végétaux...). Des substances issues du métabolisme de microorganismes peuvent également être utilisées afin de maîtriser le développement de bactéries indésirables. Ces molécules appelées bactériocines sont de petits peptides. Pour le moment, seule la nisine fait l'objet d'une autorisation d'utilisation limitée. Il est également possible d'utiliser des systèmes enzymatiques naturels tels que le système lactoperoxydase. A ce jour seule une application sur les salades IV<sup>ème</sup> gamme a reçu un avis favorable de l'AFSSA. Par ailleurs, des études semblent montrer l'intérêt dans la biopréservation de molécules issues de végétaux telles que les huiles essentielles.

Enfin, l'utilisation de bactériophages semble être également prometteuse dans la biopréservation.

#### Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques représentent la flore majoritaire des produits carnés conditionnés sous vide ou sous atmosphère modifiée. Si certaines peuvent entraîner une altération du produit (production de gaz, goûts et odeurs acides, acidification...), d'autres n'auront pas d'impact sur la qualité de celui-ci. C'est ce type de bactéries qui pourra être sélectionné pour la biopréservation. Les bactéries sélectionnées pour être utilisées dans le cadre de la biopréservation doivent satisfaire aux quatre critères suivants : les souches doivent préférentiellement être isolées d'un produit similaire, elles doivent présenter une bonne aptitude à se développer au froid, ne doivent pas apporter de modifications des qualités organoleptiques du produit et bien sûr inhiber la croissance des microorganismes pathogènes et/ou d'altération. Parmi les différents genres bactériens pouvant être cités pour leur action de bioprotection, il y a les *Lactococcus, Lactobacillus* et *Pediococcus*.

Les modes d'action de cette flore sont variés :

- acidification de l'aliment par production d'acides organiques comme l'acide lactique ou l'acide acétique,
- production de bactériocines comme la pédiocine, la nisine, et divers autres métabolites,
- compétition vis à vis des nutriments,
- production de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>),
- production de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

De nombreux essais ont été réalisés dans les produits à base de viande (produits cuits et produits crus). A titre d'exemple la Figure 1 présente les résultats obtenus par Vermeiren et al., (2006).

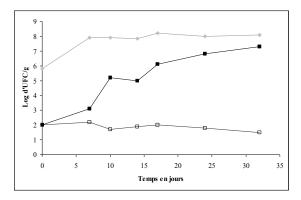


Figure 1 : Impact de *Lactobacillus sakei* (LAB) sur la croissance à 7°C de *Listeria monocytogenes* (Lm) dans du pâté. (□) Croissance de Lm en présence de LAB, (•) Croissance de Lm en absence de LAB, (•) croissance de LAB d'après Vermeiren et al., 2006.

Pour pouvoir utiliser ces bactéries il faut démontrer leur innocuité pour le consommateur. Cependant certains de ces germes sont utilisés depuis longtemps dans des produits alimentaires comme ferment. Pour ce type de germe les autorités européennes ont défini le concept QPS (Qualified Presumption of Safety) qui confère à ces micro-organismes un statut de qualification de présomption conditionnelle d'innocuité ou QPS. Ce statut est l'équivalent du statut GRAS (Generally Recognised As Safe) aux Etats unis avec quelques spécificités européennes.

Le statut QPS d'une souche sera déterminé en fonction du groupement taxonomique de la souche, des connaissances sur le groupement taxonomique considéré permettant de tirer des conclusions sur son innocuité, de l'existence ou non de pathogènes connus dans le groupe taxonomique considéré et enfin de l'usage final prévu pour le produit Les microorganismes considérés comme inadaptés à l'approche QPS devront être soumis à une évaluation complète pour s'assurer de leur innocuité.

#### Les biofilms positifs

Les bactéries lactiques peuvent être utilisées comme d'autres flores pour coloniser les surfaces en contact avec les aliments et empêcher ainsi l'implantation des germes pathogènes. Cette voie de maîtrise de la biocontamination, dite des « biofilms positifs », a fait l'objet de nombreuses études depuis une dizaine d'années. Leriche *et al.* (2000) Briandet (1999). Ainsi, des travaux réalisés dans le projet national UNIR ont montré qu'un biofilm plurimicrobien était capable, dans des conditions expérimentales, de réduire jusqu'à 95% la contamination des supports par *Listeria monocytogenes* Briandet (1999). Des travaux (Habimana cité par Moreau 2008) ont montrés que des biofilms positifs composés de certaines souches de *Lactococcus lactis*, ferments classiquement utilisés dans l'industrie laitière, inhibent fortement l'adhésion de *Listeria monocytogenes*.

De même Leriche *et al.* (2000) ont montré que la présence d'un biofilm de *Staphylococcus sciuri* réduisait l'adhésion de *Listeria monocytogenes* à des surfaces inox (cf. Figure 2). Si certains de ces travaux sont prometteurs, il convient de s'assurer non seulement qu'une implantation dans un atelier est réalisable mais également que celle-ci est durable et que l'effet de bioprotection observé lors d'essais réalisés en laboratoire existe également en entreprise.

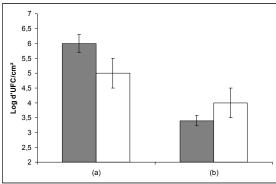


Figure 2 : Pourcentage de *Listeria monocytogenes* adhérentes à des surfaces Inox en absence (a) ou en présence (b) d'un biofilm de *Staphylococcus sciuri*. *Essais avec des cellules de Listeria en phase exponentielle* ( ) et en phase stationnaire ( ) de croissance d'après Leriche 2000.

#### Les bactériocines

Les bactériocine sont de petits peptides bactériens ayant une activité bactériostatique ou bactéricide. La plupart d'entre elles sont produites par les bactéries lactiques comme les *Lactococcus* ou les *Pédiococcus*. L'intérêt de ces molécules réside dans le fait qu'elles présentent un large spectre d'action. Elles peuvent être utilisées pour maîtriser aussi bien sur la flore pathogène que la flore d'altération.

Par ailleurs, Galvez et al. (2007) indique que l'utilisation de bactériocine n'entraîne pas de résistance croisée aux antibiotiques. En ce qui concerne l'innocuité de ces molécules ces même auteurs précisent qu'elles sont spécifiques des cellules eucaryotes et qu'elles sont détruites par les protéases digestives

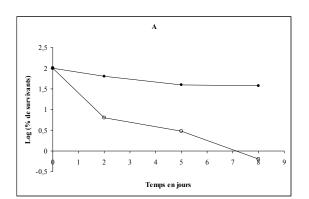
Les bactériocines sont obtenues par culture de souches productrices en fermenteur puis sont plus ou moins purifiées. Elles peuvent être ensuite incorporées au produit comme tout autre additif. L'utilisation de bactériocine pour la biopréservation peut également se faire par ensemencement des aliments par des bactéries productrices qui produiront la bactériocine. Dans ce cas la synthèse et donc la quantité de bactériocine présente dans le produit ainsi que l'effet souhaité peuvent être difficiles à maîtriser.

La nisine produite par *Lactococcus lactis* est la bactériocine qui a fait l'objet du plus grand nombre d'étude. Elle a, par ailleurs, obtenus le statut de GRAS (Generally Recognized As Safe) aux Etats unis. Au sein de l'Union Européenne, par la directive 95/2/CE relative aux additifs alimentaires autres que les colorants et les édulcorants, la nisine (E234) est autorisée comme agent de conservation dans certains aliments. La nisine est autorisée dans les fromages affinés et les fromages fondus, dans certains puddings, ainsi que dans certains autres produits laitiers.

#### Les phages

Les bactériophages sont des virus qui colonisent les bactéries. Chaque phage est spécifique d'une espèce bactérienne donnée (exemple phage spécifique de *Listeria monocytogenes*) Par ailleurs, certains sont virulents, c'est-à-dire que dès qu'ils infectent une cellule, le phage utilise la machinerie cellulaire, de la bactérie qu'il infecte, pour ce reproduire. Et rapidement fait exploser la cellule disséminant alors de nombreux autres phages. Ce sont ces deux propriétés (spécificité de l'hôte et lyse de la cellule) qui sont utilisées pour éliminer spécifiquement des bactéries indésirables dans des matrices alimentaires.

A titre d'exemple, les travaux de Bigwood *et al* ; (2008) montrent l'efficacité du système sur *Salmonella* et *Campylobacter* dans des produits carnés conservés à 5°C (cf. Figure 3).



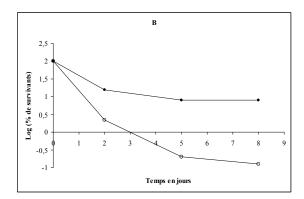


Figure 3 : Evolution de *Salmonella* (A) et *Campylobacter* (B) sur de la viande de bœuf fraîche en présence (○) ou absence (●) de phages d'après Bigwood *et al* 2008.

La FDA et le département américain de l'agriculture ont autorisé l'utilisation du LISTEX<sup>TM</sup> P100, un produit à base de bactériophages naturels contre les *Listeria* pour l'ensemble des produits alimentaires. Ce produit est considéré comme substance GRAS. En France des demandes d'utilisation de ce produit sont en cours.

#### Les extraits de plantes

Certains antimicrobiens naturels comme le thymol, le carvacrol et eugénol respectivement extrait du thym et du clou de girofle) ont démontré leur intérêt pour la conservation des aliments (Nazer *et al*, 2005, Guillier *et al* 2007). Les principaux composés connus pour leur activité antimicrobienne sont présenté dans le Tableau I. Certains de ces composés ont par ailleurs fait l'objet d'essais pour la désinfection de surface (Dubois-Brissonnet *et al*, 2008). Ainsi,

selon cette étude des doses de 5 à 10 mM de ces molécules permettent permettraient d'obtenir 5 réductions décimales en 10 min de la population microbienne présentes sur les surfaces.

Tableau I - Principaux composés antimicrobiens présents dans les épices d'après Fine et Gervais P. (2007).

Épices	Composés antimicrobiens		
Ail	Allicine		
Moutarde	Allylisothiocyanate		
Anis	Anéthol		
Paprika	Capsicidine		
Piment de Cayenne, paprika	Capsaicine		
Romarin	Carnosol		
Origan, sarriette, thym	Carvacrol		
Écorce de cannelle	Aldéhyde cinnamique		
Cannelle, graines de cumin	Cuminaldéhyde		
Allspice, clou de girofle	Eugénol		
Gingembre, thym	Géraniol		
Menthe	Composés dérivés du p-menthane		
Origan, thym	Thymol		
Romarin	Acide ursolique		

#### Le système lactoperoxydase

La lactoperoxydase est l'enzyme la plus abondante dans le lait. Elle peut produire, en présence d'ion thiocyanate et de peroxyde d'hydrogène des ions hypothiocyanite (OSNC-) qui par leur pouvoir oxydatif sont de bon anti-microbiens. Dans son utilisation pour la biopréservation cette enzyme est souvent associée à la glucose oxydase qui permet d'apporter à la lactoperoxydase le peroxyde d'hydrogène (cf. Figure 4)

Glucose + 
$$O_2$$
 +  $H_2O \rightarrow glucono-1,4$ -lactone +  $H_2O_2$  (1)

$$SCN- + H_2O_2 \rightarrow OSCN- + H_2O$$
 (2)

Figure 4 : Actions de la glucose oxydase (1) et de la lactoperoxydase (2)

Si l'efficacité du système lactoperoxydase a pu être démontrée sur différentes matrices alimentaire comme les produits laitiers ou le saumon, à ce jour, seule une application sur les salades IVème gamme a reçu un avis favorable de l'AFSSA.

#### Conclusion

L'utilisation de techniques de biopréservation semble être une bonne alternative aux méthodes faisant appel aux molécules « chimiques » et devrait permettre de répondre aux attentes des consommateurs qui souhaitent des produits « plus naturels ».

La biopréservation peut également présenter un avantage intéressant pour réduire l'intensité de traitements thermiques ou encore de sécuriser les produits à consommés en l'état (nommés Ready to Eat dans le règlement CE 2073/2005). Cela devrait également permettre de développer de nouveaux produits comme des viandes crues ou marinées.

Un professionnel qui envisage d'appliquer une technique de biopréservation devra vérifier, à l'aide de fabrications pilotes, que la solution envisagée est efficace sur son produit. En effet, une méthodologie n'est pas toujours transposable d'une matrice à une autre. Ainsi des essais réalisés avec une flore donnée peuvent être concluant sur une matrice donnée et ne pas l'être sur une autre même proche ou, même, si l'efficacité n'est pas modifiée, les qualités organoleptiques peuvent l'être. Il conviendra également de vérifier lors de ces essais que les qualités organoleptiques du produit sont préservées. Il est également possible d'associer plusieurs de ces techniques qui agiront en synergie. Ainsi

des essais ont été menés pour tester l'action conjointe de la nisine et de phages contre *Listeria monocytogenes* dans de la viande de bœuf (Dykes et Moorhead, 2002).

Il faut également noter que l'utilisation de ces procédés peut nécessiter une demande d'autorisation auprès de la DGAL et de DGCCRF.

#### Références bibliographiques

Briandet R. 1999, Maîtrise de l'hygiène des surfaces par la création de biofilms – aspects physicochimiques ; thèse de doctorat. 170 p

Bigwood, T., Hudson J.A., Billington C., Carey-smith G.V. Heinemann J.A., 2008, Phage inactivation of foodborne pathogens on cooked and raw meat. Food microbiology 25, 400-406

Dubois-Brissonnet, F., Dietrich, C., Nicolas A., Bellon-Fontaine M.-N., 2008, inactivation de *Salmonella* Typhimurium à l'état planctonique, adhérent ou en biofilm par des composés phénoliques extraits de plantes aromatiques. 3ème s Journées Thématiques Biofilms : approches expérimentales et moléculaires – 24-25 juin – Dourdan

Dykes G.A. Moorhead S.M., 2002, Combined antimicrobial effect of nisin and a listeriophage against Listeria monocytogenes in broth but not in buffer or raw beef International journal of Microbiology 73: 71-81

Fine F., Gervais P. 2007 Décontamination des produits déshydratés à usage alimentaire Techniques de l'ingénieur F1136

Galvez A., Abriouel H., Lopez R. L., Omar N. B., 2007, Bacteriocin-based strategies for food preservation. J. of Food Microbiology 120: 51-70

Guillier L. Nazer A I, Dubois-Brissonnet F., 2007 Growth response of *Salmonella* typhimurium in the presence of natural and synthetic antimicrobials: estimation of MICs from three different models. J Food Prot 70 (10):2243-2250

Leriche V, Carpentier B, 2000, Limitation of adhesion and growth of *Listeria monocytogenes* on stainless steel surfaces by Staphylococcus sciuri biofilms. *J Appl Microbiol*, 88:594-605.

Moreau J., 2008, Les biofilms inhibent l'adhésion de Listeria monocytogenes Process 1250:71

Nazer, A.I. Kobilinsky, Andre A.Tholozan, J.-L. J.-L. Dubois-Brissonnet, Florence F., 2005, Combinations of food antimicrobials at low levels to inhibit the growth of Salmonella sv. Typhimurium: a synergistic effect? Food Microbiology, 22 (5)

Vermeiren L., Devlieghere F., Vandekinderen I., Rajtak U., Debevere J., 2006, The sensory acceptability of cooked meat products treated with a protective culture depends on glucose content and buffering capacity: A case study with *Lactobacillus sakei* 10A, Meat science 74:532-545

# Communications orales Hygiène et Sécurité

### MISE EN PLACE DU DISPOSITIF RELATIF AUX INFORMATIONS SUR LA CHAINE ALIMENTAIRE DANS LA FILIERE BOVINE

# GILAIN-GALLIOT C.1, GAUTIER J.M.2

<sup>1</sup>Institut de l'Elevage BP 85225 – 35652 Le Rheu Cedex <sup>2</sup>Institut de l'Elevage BP 42118 – 31321 Castanet Tolosan Cedex

#### Introduction

Jusqu'en 2006, la réglementation relative à la sécurité sanitaire des aliments reposait sur l'application de directives sectorielles, spécifiques d'un type de production. Le paquet hygiène, ensemble de règlements européens publiés entre 2002 et 2005, apporte une approche globale de la sécurité sanitaire des denrées alimentaires et des aliments pour animaux (Godefroy et al., 2006). Le règlement (CE) N°853/2004, qui traite des règles spécifiques aux denrées animales, instaure notamment l'obligation, pour un éleveur envoyant des animaux à l'abattoir, de transmettre des informations à caractère sanitaire à ce dernier, et pour l'exploitant de l'abattoir de prendre en compte ces informations dans son plan de maîtrise sanitaire. Cette obligation, nommée « Information sur la Chaîne Alimentaire » (ICA), doit être mise en place avant le 1<sup>er</sup> janvier 2009 pour les veaux de boucherie, et avant le 1<sup>er</sup> janvier 2010 pour les autres bovins.

Afin de répondre à cette obligation, une étude a été commandée afin de déterminer les modalités possibles de mise en place de l'ICA en France dans la filière bovine (Gilain-Galliot, 2008). L'objectif de cette étude était de dresser la liste des informations pertinentes relatives à la sécurité sanitaire des aliments, et d'étudier les modalités techniques et logistiques de leur transfert.

#### Matériel et méthode

L'ensemble des réflexions menées sur l'ICA dans la filière bovine se sont tenues dans un groupe de travail constitué de l'ensemble des représentants des acteurs de la filière, avec la présence permanente et active de l'administration.

Ce travail s'est décomposé en trois étapes, et s'est basé sur la liste des dangers retenus suite à l'analyse de dangers réalisée dans le cadre de la rédaction du guide des bonnes pratiques d'hygiène en production de gros bovins, veaux de boucherie, ovins et caprins (GBPH; CNE, 2007).

#### 1ère étape:

Cette étape avait pour objectif de lister, de façon exhaustive, l'ensemble des informations en lien avec les dangers retenus dans le GBPH actuellement enregistrées dans les élevages bovins. Ces informations devaient être disponibles dans tous les élevages. Elles ont été répertoriées à dire d'experts et de représentants professionnels, et classées par nature (statut du cheptel, pratiques d'élevage, symptômes, données de productions, résultats d'analyses, diagnostics vétérinaires et résultats d'inspection en abattoir).

### 2<sup>ème</sup> étape :

Cette étape avait pour objectif de définir, parmi les informations répertoriées lors de la 1<sup>ère</sup> étape, lesquelles sont pertinentes à transmettre à l'abattoir par l'éleveur. Une information a été jugée pertinente si, d'une part, elle signale un risque accru concernant un danger déterminé, et si, d'autre part, elle permet à l'abattoir ou aux services vétérinaires de mettre en place des mesures de maîtrise du danger.

Pour chacune des informations retenues comme pertinentes, le groupe de travail a défini à partir de quand (ex : combien d'animaux atteints de salmonellose clinique) et pour combien de temps cette information doit être transmise à l'abattoir. Ce travail a été réalisé à dire d'expert et à partir des rares données scientifiques sur le sujet.

#### 3<sup>ème</sup> étape :

Cette étape avait pour objectif de déterminer les modalités de circulation des informations liées à l'ICA. Pour cela le groupe de travail a étudié différents scénarios s'appuyant sur des supports existants tels que l'ASDA (Attestation Sanitaire à Délivrance Anticipée) ou le passeport des bovins et sur des documents « à créer ».

### Résultats

Au total, 29 informations ont été recensées lors de la 1<sup>ère</sup> étape, dont plus de la moitié sont des résultats d'analyses ou d'inspection en abattoir. Aucune donnée de production n'a été retenue.

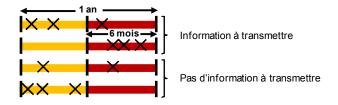
Parmi les informations répertoriées, sept se sont révélées pertinentes. Il s'agit :

- du statut de l'exploitation relatif à la brucellose et la tuberculose,
- du diagnostic de botulisme,
- du diagnostic de listériose clinique,
- du diagnostic de salmonellose clinique,

- du risque de présence de résidus de médicaments,
- des saisies antérieures pour cysticercose,
- du risque relatif à un danger à gestion particulière (ex : dioxines, radionucléides).

Sur ces sept informations retenues, une seule (risque de présence de résidus de médicaments) est en lien avec les pratiques de l'éleveur et est gérée bovin par bovin. Les autres informations retenues, issues de diagnostics réalisés par les vétérinaires ou de résultats d'analyses, concernent l'ensemble des animaux du troupeau ou d'un lot identique.

Pour ces informations relatives à des groupes d'animaux, des critères pour définir quand et combien de temps cette information doit être transmise ont été déterminés. A titre d'exemple (cf. figure 1), un éleveur doit transmettre une information « salmonellose » à l'abattoir lorsqu'au niveau de son troupeau trois animaux ont été atteints de salmonellose clinique sur moins d'un an et si le dernier cas est survenu il y a moins de 6 mois (au moment de la vente des animaux).



X cas de salmonellose validé formellement par un vétérinaire

Figure 1 : Critères permettant de déterminer quand l'éleveur doit transmettre l'information « salmonelle » au titre de l'ICA.

Concernant les modalités de transmission des informations entre l'éleveur et l'abatteur, les professionnels ont privilégié les documents déjà existants, ceci dans un souci de « simplification administrative ». Ainsi l'ASDA, qui permet déjà de transmettre des informations d'ordre sanitaire, sera complétée dès 2008 pour intégrer la totalité de l'ICA. Pour les bovins destinés à l'abattoir ne possédant pas la nouvelle version de l'ASDA, l'éleveur devra utiliser un support complémentaire s'il a des informations à transmettre. Enfin, le paquet hygiène précise que les informations liées à l'ICA doivent parvenir à l'abattoir 24 heures avant les animaux, ceci dans un souci d'organisation de l'abattoir et des services de contrôle. De par le support retenu et après avis des représentants des abattoirs et de l'administration, la clause des 24 heures ne sera pas mise en œuvre. Elle pourra être réactivée au cas par cas, sur demande des Pouvoirs Publics, lors de ventes de lots importants d'animaux concernés par les dangers à gestion particulière ou la cysticercose.

#### Conclusion

Réorganisant la réglementation relative à la sécurité sanitaire des aliments, le paquet hygiène demande la transmission d'informations à caractère sanitaire entre l'élevage et l'abattoir. Une étude a été réalisée afin de déterminer quelles informations il serait pertinent de transmettre, et comment ces informations pourraient être transmises. Cette étude, menée en cohérence avec la rédaction du GBPH et avec la participation de l'ensemble des acteurs de la filière bovine, a permis de sélectionner des informations pertinentes relatives à *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp*, *Cysticercus bovis*, aux dangers à gestion particulière et aux résidus de médicaments vétérinaires. Pour des raisons de simplicité de mise en œuvre et de mise en application, le groupe a proposé que ces informations circulent avec les bovins, sur leur ASDA. Il a également préconisé que la transmission 24 heures à l'avance soit limitée aux informations relatives à *Cysticercus* ou aux dangers à gestion particulière et concernant un grand nombre d'animaux. Après évaluation par l'AFSSA, cette proposition pourra servir de base lors de la rédaction de l'arrêté sur la mise en place de l'ICA dans la filière bovine française. Il restera ensuite à évaluer les différences entre pays membres dans la mise en application du paquet hygiène, et ce afin de limiter les éventuels risques de distorsion de concurrence.

### Références bibliographiques

CNE, 2007. 173 p. [non disponible]

Gilain-Galliot C., 2008. Collection résultats Institut de l'Elevage, 280832001.

Godefroy C., Carrotte G., Gautier J.M., 2006. Collection résultats Institut de l'Elevage, 070659002.

### Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un projet financé par Interbev, l'Office de l'Elevage et le Ministère de l'Agriculture (DGAL).

Les auteurs souhaitent vivement remercier l'ensemble des professionnels ayant participé à l'élaboration du GBPH et à la réflexion sur l'ICA.

# STATUT DE CONTAMINATION AU STADE "UNITE DE VENTE CONSOMMATEUR" DE VIANDES DE BICHE SAUVAGE POUR 3 INDICATEURS BACTERIENS

# MAGRAS C., POIGNET B., LAROCHE M. UMR ENVN / INRA 1014 SECALIM, BP 40706, 44307 Nantes Cedex 3

#### Introduction

Bien que peu consommée en France, avec environ 600 grammes par an / habitant, la viande de gibier sauvage dont la production primaire locale, très diversifiée dans ses pratiques, est insuffisante (Bertolini *et al.* 2005) fait l'objet de nombreux échanges majoritairement intra-communautaires (7000 tonnes / an importés). Le grand gibier (cerf, chevreuil et sanglier) représente les 2 tiers de ces importations, dont 2000 tonnes pour les viandes de biche et de cerf (SNCE, 2005). La filière « viandes de gibier sauvage » s'organise autour d'établissements agréés (ateliers de traitement et/ou découpe, entreprises de négoce) traitant des viandes fraîches (réfrigérées) ou des viandes congelées. La mise en conformité de cette filière avec les exigences réglementaires européennes en terme de sécurité des denrées mises sur le marché nécessite une analyse des dangers pour les consommateurs et la définition de bonnes pratiques d'hygiène. Or si les zoonoses parasitaires alimentaires associées à la viande de gibier sont bien identifiées (Euzéby 1998), la part des zoonoses alimentaires bactériennes et la caractérisation de la flore bactérienne de ces viandes restent mal connues. Cette étude avait pour objectifs la conduite d'une première identification des dangers bactériens pour les viandes de gros gibier, de caractériser le statut de contamination - prévalence, niveau de contamination, localisation - de viandes de biche-cerf (*Cervus elaphus*), espèce la plus souvent étudiée, réfrigérées et congelées, vis-à-vis de trois indicateurs de la contamination bactérienne de la viande d'origine soit digestive animale, soit peaucière animale et humaine : *Clostridium perfringens, Escherichia coli* et les staphylocoques coagulase positive.

#### Matériel et Méthodes

*Identification des dangers bactériens*: elle a été conduite selon Fosse et ses collaborateurs (2008) à partir d'une sélection de la bibliographie, en langues française et anglaise, arrêtée en juillet 2007 (67 articles, 16 fiches techniques sur des sites internet d'organismes officiels, 4 thèses pour le doctorat vétérinaire, 10 ouvrages fondamentaux).

Caractérisation du statut de contamination : un total de 662 échantillons, correspondant chacun à une Unité de Vente Consommateur (UVC), c'est-à-dire le produit fini prêt à être distribué pour la consommation, a été prélevé dans les 5 ateliers partenaires, en répartissant les effectifs entre les sautés (S) (n= 328) et les rôtis (R) (n=334) (tableau II). Les analyses bactériologiques ont été réalisées à partir de prélèvements réalisés sans cautérisation de la surface, sur plusieurs « cubes » pris dans l'UVC, la masse cumulée des cubes devant répondre aux quantités préconisées dans les normes. Les UVC réfrigérées (F) (n=322) ont été prélevés après bardage, ficelage et mise sous-vide. Les UVC congelées (C) (n=340) ont été conservés à - 18°C jusqu'à leur prélèvement au laboratoire après décongélation au froid positif. Les analyses bactériologiques respectaient les préconisations des normes NF et / ou ISO en vigueur mais les plages de détection ont été élargies.

Analyse des données: La prévalence moyenne P\_ correspond au nombre de prélèvements positifs (NP) par rapport au nombre total de prélèvements (N). Pour les prélèvements positifs, le niveau de contamination est décrit par la valeur logarithmique de la moyenne géométrique des résultats de dénombrements (log décimal du nombre d'UFC) L\_ et l'écart-type correspondant. Les résultats inférieurs au seuil de détection sont exclus de ce calcul. La saisie des résultats et les premiers traitements sont réalisés dans le tableur EXCEL. Pour les analyses statistiques, nous avons utilisé les procédures « glm » et « varcomp » du logiciel SAS.

#### Résultats et discussion

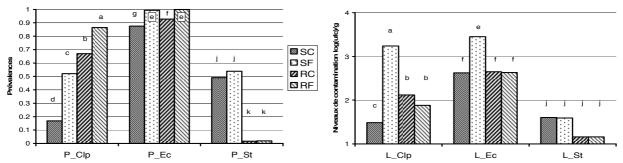
Tableau I : Identification des dangers bactériens pouvant être associés à la consommation de viande de gibier sauvage

Danger	СН	Su	Prévalences	n	Espèces
Campylobacter thermotolérants		X	de 0,3 à 20% dans les matières fécales 2,1-2,9% dans les viandes ; 12% dans les matières fécales	5	ruminants sauvages sangliers
Clostridium botulinum	X		NR	1	NR
Clostridium perfringens		X	50% < 10 UFC/g, 18% > 1000 UFC/g viandes	1	cerf, chevreuil, sanglier
E. coli shigatoxinogènes	X		de 0,25 à 3% STEC O 157	13	cerf, sanglier, renne, élan, daim
Listeria monocytogenes		X	4,3% dans les viandes 5,5% dans les viandes	1 2	cerf, chevreuil sanglier
Mycobacterium spp		X	de 0,2 à 29% lésions ou isolement	12	cerf, sanglier
Salmonelles		X	de 2,2 à 34,4% dans les viandes 0% dans les matières fécales	13	cerf, chevreuil, sanglier,
Staphylococcus aureus		X	de 3,2 à 9,4% <i>dans les viandes</i> 6,3 à 7,1% <i>dans les viandes</i>	5	cerf, chevreuil sanglier
Yersinia enterocolitica		X	NR	0	porc connu, sanglier évoqué

Légende : CH : cas humains rapportés associés à la consommation de viande de gibier sauvage ; Su : danger suspecté mais aucun cas humain rapporté ; n : nombre de références bibliographiques associées aux gibiers sauvages ; espèces de gibier détectées « positives » ; NR : non renseigné ; en grisé : danger avéré.

Parmi les 9 dangers bactériens pouvant être associés à la viande de gibier sauvage (tab. I) : 2 sont avérés ; 7 sont suspectés dont 2 du fait de leur caractère avéré dans les filières de viande de ruminants et de porc. Excepté *Mycobacterium spp.*, les dangers bactériologiques détectés le sont à ce jour en l'absence de signes cliniques chez les animaux et ou de lésions macroscopiques pathognomoniques.

Pour les échantillons testés, les prévalences moyennes observées (fig. 1) pour *E. coli* et Staphylocoques à coagulase positive sont du même ordre que celles rapportées par Deutz *et al.* (2000). Cependant des variations, pouvant être significatives, des prévalences moyennes sont observées (fig. 1) en fonction des dangers, et pour chacun en fonction des morceaux (sauté ou rôti) et de la présentation (réfrigéré ou congelé). Les variations sont différentes (tab. II) pour le niveau de contamination, elles restent significatives notamment pour les sautés en fonction de la présentation pour *Cl. perfringens* et *E. coli*. L'effet du morceau (sauté ou rôti) est marqué pour les résultats correspondant aux staphylocoques et à un degré moindre pour ceux correspondant aux *Cl. perfringens*. Si l'effet de la présentation (frais ou congelé) reste limité, l'effet produit (interactions morceau \* présentation) est marqué pour les niveaux de contamination en *Cl. perfringens* et en *E. coli*. Dans tous les cas, la variation liée à l'erreur résiduelle est la plus élevée (tab. III).



**Figure 1 :** Prévalences et niveaux de contamination des échantillons positifs. Pour chacun des 3 indicateurs considérés, des lettres différentes pour les produits indiquent des différences significatives (test SNK au seuil de 5%).

**Tableau II**: Effectif total et nombre d'échantillons positifs, valeur moyenne et écart-type en log(UFC)/g par produit pour chacun des 3 indicateurs.

	N	Cl. perf				E. coli			Staph c+		
Prod	total	NP	L	et	NP	L	et	NP	L	et	
SC	161	27	1.48	0.43	141	2.62	0.71	79	1.60	0.34	
SF	167	87	3.24	1.02	166	3.45	0.72	90	1.59	0.34	
RC	179	120	2.12	0.80	166	2.65	0.88	3	1.16	0.28	
RF	155	134	1.88	0.52	155	2.63	0.49	3	1.16	0.28	

**Tableau III :** Pourcentage de la variation liée à chaque facteur et à l'erreur (SAS, proc VARCOMP) pour la prévalence et le niveau de contamination

<u> </u>						
	P_Clp P	_Ec l	⊃_St	L_Clp	L_Ec	L_St
Var(morc)	27	0	48	15	1	43
Var(pres)	8	8	1	0	0	1
Var(prod)	0	0	0	41	26	0
Var(Error)	65	92	51	44	73	56

Les prévalences et les niveaux moyens observés sont du même ordre de grandeur que ceux sur carcasses réfrigérées (Poignet *et al.* 2006; Atanassova *et al.* 2008) suggérant une certaine maîtrise du développement de ces flores bactériennes par les ateliers étudiés au cours de l'élaboration des sautés et des rôtis. Les fortes variations individuelles des niveaux de la contamination bactérienne de ces viandes de gibier sont fréquemment rapportées quels que soient les indicateurs analysés (Atanassova *et al.* 2008, Poignet *et al.* 2006, Paulsen et Winkelmayer 2004).

#### **Conclusions**

Neuf dangers bactériens sont associés aux viandes de grands gibiers sauvages, mais seuls 2 sont à ce jour avérés. La caractérisation de la contamination bactérienne de ces viandes doit être conduite du fait de leurs spécificités. Cette première caractérisation (biche-cerf) vis-à-vis de *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* et les staphylocoques coagulase positive, n'est pas comparable aux données issues des filières des viandes de boucherie. Elle confirme de très fortes variations individuelles dont les sources au stade des produits finis n'apparaissent pas clairement dans les facteurs considérés ici. Ces sources de variation du profil microbiologique des viandes de grands gibiers sauvages doivent être recherchées au niveau de la chasse (la production primaire), ce que confirme Atanassova et *al.* (2008).

#### Références bibliographiques

Atanassova V., Apelt J., et al. 2008. Meat Science 78(4): 414-419.

Bertolini R., Zgrabic G., et al. 2005. Veterinary Research Communications, (29) suppl.2, 97-100.

Deutz A., Fuchs K., et al. 2000. Fleischwirtschaft, 12: 106-108.

Euzéby J. 1998. Tec et Doc., Lavoisier, Paris, 402 pp.

Fosse J., Seegers H., Magras C. 2008. Vet Res., 39:01.

Paulsen P., Winkelmayer R. 2004. Eur J Wildl Res., 50: 157-159.

Poignet B., Laroche M., Magras C. 2006. Annual Scientific Conference, ECVPH, 6 h-7th December: 17-18.

### Remerciements

Aux industriels de la filière et au Syndicat National du Commerce Extérieur des produits congelés et surgelés qui ont initié, financé et largement contribué aux prélèvements. Au Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires Rurales, pour son soutien financier.

# DIVERSITE GENETIQUE ET CAPACITE A FORMER DES BIOFILMS DE STAPHYLOCOCCUS EQUORUM, ESPECE DOMINANTE DANS LES SAUCISSONS FERMIERS ET PERSISTANTE SUR LES SURFACES D'UN ATELIER

LEBERT I.<sup>1</sup>, LEROY S.<sup>1</sup>, CHACORNAC J.-P.<sup>1</sup>, CHAVANT P.<sup>2</sup>, BERNARDI T.<sup>2</sup>, TALON R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA, UR454 Microbiologie, F-63122 Saint-Genès Champanelle, France <sup>2</sup> BioFilm Control SAS, Biopôle Clermont-Ferrand – Limagne, F-63360 Saint-Beauzire, France

#### Introduction

Staphylococcus equorum est une espèce souvent isolée de produits naturellement fermentés (saucissons, fromages) ainsi que d'autres produits tels que les jambons secs. Elle participe à l'intensité de la flaveur des saucissons secs fermiers. C'est également l'espèce dominante sur les surfaces et dans l'environnement des ateliers de fabrication (Corbière Morot-Bizot et al. 2006; Leroy et al. 2006). Or peu d'informations existent sur l'influence des bactéries résidentes dans l'environnement d'un atelier sur les produits fermentés naturellement. L'objectif de ce travail était dans un premier temps d'évaluer la diversité génétique de 118 isolats de S. equorum isolés des surfaces et des produits d'un atelier fabriquant des saucissons fermiers. Dans un deuxième temps, la capacité à produire des biofilms de 57 isolats représentatifs de la diversité a été évaluée afin de déterminer si cette propriété leur conférait un avantage pour coloniser les surfaces de l'atelier.

#### Matériel et méthodes

118 isolats de *S. equorum* provenant des produits (boyaux, mêlées, produits fermentés et séchés) et, après les procédures de nettoyage et désinfection, des surfaces (murs de la chambre froide, couteaux, hachoir, embossoir et tables de découpe) d'un atelier fermier de saucissons secs du Massif Central ont été étudiés. Deux échantillonnages ont été effectués à 6 mois d'intervalle. Les 118 isolats ont été analysés par électrophorèse en champs pulsés (PFGE) après digestion de l'ADN avec l'enzyme de restriction *Sma*I selon le protocole développé par Morot-Bizot et al. (2003). 57 isolats représentatifs de la diversité génétique des souches ont été caractérisés sur leur capacité à former des biofilms à 24 h et 48 h. La formation du biofilm a été étudiée par la méthode du Biofilm *Ring Test*<sup>®</sup> (Chavant et al. 2007), méthode basée sur l'immobilisation de billes magnétiques par les bactéries formant un biofilm. L'étude des biofilms a été réalisée dans des microplaques de polystyrène de 96 puits à 30°C, température optimale de croissance de l'espèce.

#### Résultats et discussion

### - Diversité des isolats par analyse PFGE (Tableau 1)

Tous les isolats, sauf trois résistants à la restriction par l'enzymze *Sma*I, ont été caractérisés par PFGE. 50 profils PFGE différents ont été obtenus ce qui indique une grande diversité des souches isolées dans l'atelier. Deux profils majoritaires sont observés SE01 et SE02, constituant 22% (25/115) et 13% (15/115) de l'ensemble des isolats. La souche de profil PFGE SE01 était présente dans tous les produits et sur les surfaces des couteaux. La souche de profil PFGE SE02 était présente dans tous les produits et sur plusieurs surfaces dans l'atelier.

Cinq profils PFGE incluant les deux types dominants ont été trouvés aux deux périodes d'échantillonnage. Ceci indique que ces cinq souches de *S. equorum* ont persisté dans l'atelier pendant au moins six mois. Une grande diversité de profils est observée pour tous les points de prélèvements et tout au long du procédé dans les produits. Dans les produits, les souches isolées appartenaient à 32 profils différents; ce nombre atteint 24 dans l'environnement. Seules des souches de 4 profils PFGE (type SE01, SE02, SE22, SE23) ont colonisé à la fois les produits et l'environnement.

#### - Diversité des isolats dans leur capacité à former des biofilms (Figure 1)

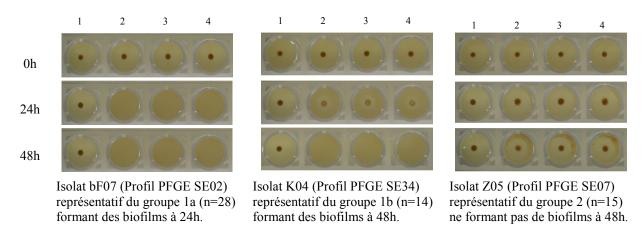
Les 57 isolats sélectionnés ont une croissance similaire (mêmes temps de génération et même temps de latence) dans un milieu de culture BHI à 30°C, la croissance a été mesurée en microplaque dans un spectrophotomètre Bioscreen C. Le Biofilm *Ring Test*® à 0, 24 et 48 heures a permis de détecter des différences sur la capacité à former des biofilms entre les 57 isolats. A 0 h, les billes non bloquées par les bactéries étaient agglutinées après application du champ magnétique, un spot noir est alors observé sur l'image scannée. Les images scannées au temps zéro étaient similaires à celles des témoins en milieu stérile. Après 48 h d'incubation, 42 isolats (74%) (groupe 1) formaient des biofilms en empêchant le déplacement des billes sous l'influence du champ magnétique et 15 isolats incluant les profils type SE01 ne produisaient pas de biofilm (groupe 2). Parmi les 42 isolats biofilm positifs, 28 incluant les isolats de profils PFGE type SE02 formaient des biofilms à 24 h (groupe 1a), les 14 autres formaient un biofilm entre 24 et 48 h (groupe 1b). Les souches de *S. equorum* formant des biofilms provenaient indifféremment des produits ou de l'environnement. Parmi les 5 souches de *S. equorum* présentes dans l'atelier 6 mois après, 3 formaient des biofilms.

Tableau 1 : Origine et diversité des isolats S. equorum

Echantillons	Origina	Nombre	Profils Pl	FGE	Ratio*	
Echantillons	Origine	d'isolats	Nombre	Nom	Kano	
	Chambre froide	13	7	SE02, SE03, SE21, SE32, SE36, SE37, SEA2	5/7	
	Couteaux	13	9	SE01, SE02, SE10, SE25, SE34, SE39, SE41,	6/9	
F	Coulcaux	13	9	SE42, SE48	0/9	
Environnement	Hachoir	9	6	SE02, SE04, SE04a, SE31, SE40, SEA1	4/5	
	Embossoir	3	3	SE05, SE23, SE47	2/2	
	Table de découpe	4	4	SE02, SE21, SE22, SE23	1/2	
	Boyaux	9	5	SE01, SE18, SE26, SE33, SE43	3/5	
	Mélées	14	10	SE01, SE02, SE06, SE07, SE08, SE16, SE22,	4/6	
	Wielees	14	10	SE23, SE38, SE46	4/0	
Produit	Produit fermenté	20	12	SE01, SE01a, SE02, SE09, SE11, SE12, SE13,	6/6	
Troduit	1 Todait Termente	20	1.2	SE14, SE18, SE20, SE22, SE30	0/0	
	Produit final			SE01, SE02, SE12, SE13, SE15, SE17, SE18,	11/15	
		31	17	SE19, SE22, SE23, SE24, SE27, SE28, SE29,		
				SE35, SE44, SE45		

Ratio\* = Nombre d'isolats formant un biofilm / nombre d'isolats testés

**Figure 1**: Evaluation de la formation de biofilm par trois souches représentatives des trois groupes. Test réalisé avec le Biofilm *Ring Test*® à deux temps d'incubation à 30°C. Les images ont été scannées après l'application d'un champ magnétique. Les témoins négatifs contenant du milieu de culture stérile sont dans les puits 1. Les puits 2, 3 et 4 représentent les trois répétitions d'un même isolat.



#### Conclusion

Cette étude révèle la forte diversité génétique au sein de l'espèce *S. equorum*, cela d'autant plus que les isolats proviennent d'un seul atelier fabriquant des saucissons fermiers. Une grande diversité de souches colonise les produits ou l'ensemble de l'atelier, mais peu de souches colonisent les deux niches, ce qui indique que les échanges entre les produits carnés et les surfaces de l'atelier sont limités. La majorité des souches de *S. equorum* forment des biofilms selon une méthode validée, le Biofilm *Ring Test*<sup>®</sup>. Cette capacité à former des biofilms n'est pas reliée à l'origine des souches de *S. equorum*, produits carnés ou surfaces, et ne semble pas leur donner un avantage direct à persister dans l'atelier.

### Références bibliographiques

Chavant, P., Gaillard-Martinie, B., Talon, R., Hébraud, M., Bernardi, T., 2007. J. Microbiol. Methods, 68(3), 605-612. Corbière Morot-Bizot, S., Leroy, S., Talon, R., 2006. Int. J. Food Microbiol. 108(2), 210-217. Leroy, S., Chevallier, I., Lebert, I., Chacornac, J.P., Talon, R., 2006. Viandes Prod. Carn.25(5), 171-175. Morot-Bizot, S., Talon, R., Leroy-Sétrin, S., 2003. J. Microbiol. Methods. 55(1), 279-286.

#### Remerciements

Ce projet a été financé dans le cadre d'un projet européen : Tradisausage QLK1-CT-2002-02240.

# ECOLOGIE MICROBIENNE DU CHORIZO FRANÇAIS : INCIDENCE DES PARAMETRES TECHNOLOGIQUES SUR LA SECURITE ET LA SALUBRITE DES PRODUITS

# S. CHRISTIEANS<sup>1</sup>, G. DORCHIE<sup>2</sup>, J.P. CHACORNAC<sup>2</sup> ET R. TALON<sup>2</sup>

- (1) Association pour le Développement De l'Institut de la Viande, 10 rue Jacqueline Auriol, ZAC Parc Industriel des Gravanches, 63039 Clermont-Ferrand cedex 2, France.
- (2) UR454 Microbiologie, INRA, centre Clermont Theix, 63122, Saint-Genès Champanelle

#### Introduction

La fermentation et le séchage sont des procédés reconnus pour réduire les germes pathogènes et d'altération apportés initialement par la matière première. Ces effets barrières sont attribués au pH, à la faible activité de l'eau (aw), à la présence de sels (nitrites, nitrates) et d'épices. En France, cet effet inhibiteur a été étudié et démontré pour des produits séchés tel que le saucisson sec (1, 2, 3), mais pas pour le chorizo. Pour ce produit, les études bibliographiques émanant des pays producteurs et consommateurs (Espagne, Mexique, Amérique du sud) mettent en évidence des prévalences en bactéries pathogènes relativement élevées et soulignent l'implication du chorizo dans des toxi-infections alimentaires (4, 5, 6, 7, 8, 9). Dans ce contexte, l'objectif de cette étude a été de caractériser l'écologie microbienne du chorizo fabriqué par les industriels français.

#### Matériels et méthodes

Pour évaluer l'écologie microbienne du chorizo de procédé français, des campagnes de prélèvement ont été effectuées chez 5 entreprises partenaires aux 3 stades clés de la fabrication: à J0 (le jour de la fabrication) pour évaluer et recenser la contamination initiale, à J6 (fin d'étuvage) pour suivre l'évolution de la flore endogène après la phase d'acidification et à J21 (fin de séchage) pour déterminer la flore finale des produits. Pour chaque entreprise, 5 campagnes de prélèvement (n = 5) ont été réalisées soit un total de 75 produits (25 par stade). Pour chaque produit, les recherches et les dénombrements des germes suivants ont été effectués : la flore technologique (flore lactique, coques Gram positifs, catalase positifs : CGC+), la flore d'altération (*Pseudomonas*, entérobactéries, *Brochothrix*, levures et moisissures), la flore indicatrice d'hygiène (*E. coli, Enterococcus*, coliformes thermotolérants) et la flore pathogène (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, et *Clostridium*).

Chaque échantillon ayant donné un résultat positif en bactéries pathogènes, 3 à 5 colonies ont été isolées afin de les identifier (tests biochimiques et PCR), d'évaluer leur diversité (PFGE), leur sérotype (*Listeria monocytogenes* et *Salmonella*) et la production d'entérotoxines (*S. aureus*). Les sérotypes majoritairement isolés dans cette étude ont été ensuite inoculés artificiellement dans des fabrications pilotes selon un procédé standard de fabrication pour évaluer leur comportement.

#### Résultats et discussions

Les résultats des suivis microbiologiques des germes d'intérêt technologique, d'altération ou indicateurs d'hygiène (moyenne des 5 campagnes), ont montré : une évolution classique de la flore technologique, une flore d'altération présente à des concentrations initiales élevées (notamment : *Pseudomonas* et *Brochothrix*, levures) qui tend à diminuer au cours du procédé, mais ne disparait pas totalement en fin de sèche. Par exemple, dans certaines salaisons, la concentration en *Pseudomonas* ou *Brochothrix* en fin de séchage est autour de 3 log ufc/g. Pour les entérobactéries, la contamination initiale était variable selon les ateliers (1 à 4 log/g), mais tend à disparaitre en fin de séchage tout comme une majorité de la flore indicatrice d'hygiène.

Le traitement statistique (test ANOVA) de l'ensemble des données issues des 5 campagnes et des 5 salaisons a montré des variations significatives en fonction de la salaison et du stade du procédé (figures 1 et 2), mais aucun effet significatif de la campagne de prélèvement n'a été noté.

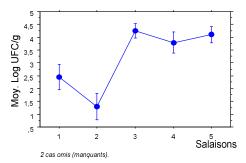


Figure 1 : Concentration moyenne des Brochothrix (moyenne des 5 prélèvements) en fonction de la salaison

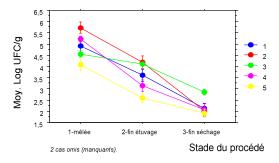


Figure 2 : Evolution des Pseudomonas selon la salaison et le stade du procédé

Concernant les bactéries pathogènes, les résultats de prévalence sur les produits prélevés à J0 (toute salaison confondue) montrent une contamination élevée, en moyenne de 36%, 20%, et 32% respectivement pour *L. monocytogenes*, *Salmonella* et *S. aureus*. A J21 (fin de séchage), les prévalences notées sont très faibles : 0% pour *Listeria monocytogenes* et 1,3% pour *Salmonella* montrant ainsi un effet assainissant de la fermentation et du séchage. Pour *S. aureus*, même si la prévalence est restée relativement élevée (20%), 100% des échantillons positifs présentaient des dénombrements inférieurs à 500 ufc/g. En effet, pour ce germe, la nouvelle réglementation (Règlement CE25073/2005) ne définit pas de critère de conformité contrairement à l'ancienne réglementation (arrêté du 21/121979), où les produits de salaison ne devaient pas excéder le taux de 500 ufc/g de produit. Notons également que dans cette étude, des recherches de *E. coli* O157 :H7 ont été réalisées sur les produits en fin de séchage et qu'aucun échantillon ne s'est révélé positif pour ce germe.

Le sérotypage des isolats a montré que *Salmonella Typhimurium* et *Listeria monocytogenes* ½ a étaient les sérotypes dominants. Pour *S. aureus*, le dosage des entérotoxines *in vitro* sur les 67 isolats a révélé une absence de production d'entérotoxines.

La diversité génétique des différents isolats par PFGE a montré une très faible diversité pour deux bactéries pathogènes : *L. monocytogenes* et *S. aureus* et une plus grande diversité pour *Salmonella*.

Pour chaque bactérie pathogène, des challenges tests ont été réalisés (pulsotype et sérotype dominants) dans des fabrications expérimentales de chorizo à raison de 2 log ufc/g de produit. En fin de séchage, la souche de *Salmonella* ensemencée montre un dénombrement inférieur au seuil de détection, mais avec une persistance obtenue après enrichissement. Cependant, au cours de la conservation, *Salmonella* disparait probablement du à la diminution de l'activité de l'eau. *S. aureus* disparait au cours du procédé, alors que, *L. monocytogenes* disparait au cours de la conservation.

#### Conclusion

Cette étude a permis de montrer que l'écologie microbienne du chorizo de procédé français est très proche de celle du saucisson sec pour la flore technologique, la flore indicatrice d'hygiène et pour la prévalence en bactéries pathogènes. Pour la flore d'altération, cette étude a mis en évidence des concentrations élevées dans les matières premières (moins nobles que celles qui rentrent dans la technologie du saucisson sec) et qui semble bien résister aux procédés d'étuvage et de séchage. Il est donc important pour les industriels de maîtriser cette flore d'altération qui peut être à l'origine de défauts organoleptiques ou d'accidents technologiques (poissage ou odeurs anormales). Enfin, les prévalences en bactéries pathogènes dans les produits sont très faibles.

#### Références bibliographiques

- 1- D. Thevenot, ML. Delignette-Muller, <u>S. Christieans</u>, C. Vernozy-Rozand. 2005. Fate of Listeria monocytogenes in experimentally contamined French sausages. Int. J. food Microbiol. 101 (2), 189-200.
- 2- D. Thevenot, ML. Delignette-Muller, <u>S. Christieans</u>, C. Vernozy-Rozand. 2005. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in 13 dry sausage processing and their products. Int. J. food Microbiol. 102 (1), 85-94.
- 3- D. Thevenot, ML. Delignette-Muller, <u>S. Christieans</u>, S. Leroy-Setrin, C. Vernozy-Rozand. 2006. Serological and molecular ecology of *Listeria monocytogenes* isolates collected from 13french pork meat salting-curing plants and their products. Int. J. food Microbiol. Accepted for publication. Int. J. food Microbiol. 112 (2), 153-161.
- 4- Bello-Perez LA. 1993. Serotypes of *Salmonella* identified in chorizos for sale in Acapulco, Guerrero, Mexico. Rev Latinoam Microbiol. 35:377-81.
- 5- Bello-Perez LA and Abarca Mateos C. 1991. The incidence of *Salmonella* in the chorizos that are retailed in Acapulco, Guerrero. Salud Publica Mex. **33:**178-83.
- 6- Hew, C.M., Hajmeer, M.N., Farver, T.B., Glover J.M., Cliver D.O., 2005. Survival of *Listeria monocytogenes* in experimental chorizos. Journal of Food protection. 68:324-330.
- 7- Letertre C, Perelle S, Dilasser F and Fach P., 2003a. Identification of a new putative enterotoxin SEU encoded by the egc cluster of *Staphylococcus aureus*. J. Appl. Microbiol. 95: 38-43
- 8- Martin B, Garriga M, Hugas M and Aymerich T. 2005. Genetic diversity and safety aspects of enterococci from slightly fermented sausages. J. Appl. Microbiol. 98:1177-90.
- 9- Morera J, Rodriguez E ans Gamboa MM. 1999. Determination of *Clostridium perfringens* in pork sausages from Metropolitan area of Costa Rica. Ach Latinoam Nutr. 49:279-82.

### Remerciements

Cette étude a été financée par des fonds de l'Office de l'Elevage et par 5 industriels de la salaison.

Posters Hygiène et Sécurité

# ORIGINE ET THERMORESISTANCE DES *LEUCONOSTOC* AU COURS DU PROCESS DU JAMBON CUIT SUPERIEUR

#### RIVOLLIER M, CHRISTIEANS S.

### ADIV, 10 rue Jacqueline Auriol - ZAC Parc Industriel des Gravanches -

#### 63039 Clermont-Fd Cedex 2

#### Introduction

Malgré une réglementation rigoureuse et des efforts en matière d'hygiène et de sécurité, des altérations sur le jambon cuit prétranché sont observées ; elles sont représentées par un gonflement des barquettes sous atmosphère modifiée, par la présence de mauvaises odeurs dans la masse du produit ou encore par l'apparition de mucus filamenteux.

Ces observations associées à des analyses bactériologiques sur des produits à défauts ont souvent corrélé ce phénomène à une origine microbienne. Dans ce contexte, des suivis microbiologiques effectués sur différents échantillons à défaut par des méthodes conventionnelles et moléculaires ont permis d'identifier quatre bactéries majoritaires impliquées dans l'altération des jambons cuits analysés :

- deux bactéries lactiques hétérofermentaires (*Leuconostoc carnosum* et *Leuconostoc mesenteroides*); leur responsabilité dans l'apparition des défauts d'altération a été validée par tests de croissance (challenges-tests) dans une matrice jambon,
- deux contaminants de l'environnement et de la viande dans une moindre mesure : *Aeromonas hydrophila* et *Pseudomonas cepacia*.

Ainsi, pour permettre aux industriels de mieux connaître l'origine de ces germes et d'apporter les actions correctives adéquates, notre étude s'est orientée vers l'une des quatre grandes étapes (sélection et préparation de la viande, saumurage, barattage et cuisson) du procédé de fabrication du jambon cuit supérieur : la cuisson. En effet, d'un point de vue bactériologique, cette phase a un effet assainissant des produits de toute charge bactérienne d'où l'objectif de valider l'une des deux hypothèses suivantes: soit les souches impliquées dans les défauts sont thermorésistantes, soit les souches ont contaminé les produits au cours des phases de manipulations après cuisson (déconditionnement, tranchage, reconditionnement,...).

#### Matériel et méthodes

La thermorésistance des souches incriminées a été étudiée *in situ*, par ensemencement artificiel des trois souches majoritairement mises en cause dans les défauts d'altération: *Leuconostoc carnosum*, *Leuconostoc mesenteroides* et *Aeromonas hydrophila*.

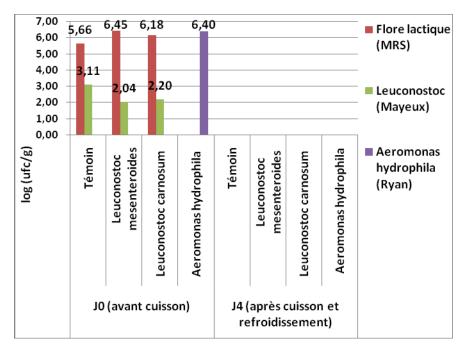
Afin de se rapprocher des conditions réelles de contamination des salaisons, les noix de jambon issues d'un même lot, préalablement injectées de saumure et barattées, ont été ensemencées individuellement à l'aide d'une seringue stérile à raison de 4-6 log/g de viande (sauf pour les jambons témoins non inoculés). Après les étapes de moulage, mise sous vide et repos, un programme de cuisson basé sur les pratiques industrielles a été appliqué (cycles de cuisson standards).

Des analyses microbiologiques préalables sur la matière première réceptionnée ont été réalisées pour évaluer la charge bactériologique initiale. Puis, aux deux points clés du procédé de fabrication (avant cuisson; après cuisson et refroidissement), une tranche entière (cœur + surface) prélevée au milieu d'un jambon de chaque essai (jambon témoin ou jambon inoculé) a été analysée et les flores inoculées ont été dénombrées sur leur milieu de culture approprié.

#### Résultats et discussion

**Graph.** Evolution des différentes flores analysées avant cuisson et après cuisson + refroidissement

(pour faciliter la lecture du graphique, les dénombrement des flores après cuisson qui se sont révélés inférieures au seuil de détection (< 1 log/g) n'ont pas été représentés)



Les analyses microbiologiques réalisées sur la matière première <u>injectée de saumure et barattée</u> (qui a fait l'objet d'ensemencement) ont montré que cette dernière était très riche en bactéries lactiques (5.6 log/g), et en *Leuconostoc*. Il est toutefois important de mentionner que, lors d'une précédente étude, le milieu Mayeux, utilisé pour rechercher et dénombrer les *Leuconostoc*, n'avait pas donné de résultats probants ; en effet, cette gélose permet bien la croissance des *Leuconostoc*, mais des *Leuconostoc* spécifiques du lait et des produits laitiers. A préciser également que les *Leuconostoc* testés dans cette étude ont été sélectionnés sur milieu MRS et ne croissent pas sur milieu de Mayeux. De ce fait, les dénombrements sur milieu MRS englobent à la fois la flore lactique endogène et exogène.

Ainsi, il a été délicat d'estimer précisément le taux de contamination artificielle en *L. carnosum* et *mesenteroides* contrairement à *Aeromonas hydrophila* où les dénombrements réalisés sur le milieu Ryan, spécifique à cette bactérie, ont montré un taux d'ensemencement artificiel de l'ordre de 6 log/g.

Après cuisson, les analyses mettent en évidence que quelque soit la flore, endogène ou inoculée, les dénombrements sont inférieurs au seuil de détection (inférieurs à 1 log ufc/g). Nous pouvons ainsi conclure que les bactéries testées ou naturellement présentes sont thermosensibles.

#### Conclusion

Cette étude nous a permis de valider que, *in situ* les souches inoculées (ou endogènes) sont sensibles à des montées en température aux alentours de 60-65°C à cœur. Des analyses réalisées lors de la conservation des produits sous vide à 4°C sont actuellement en cours. En effet, la recherche et le dénombrement de la flore lactique sont prévus à mi DLC (J15) et à la DLC des produits (J30). A partir des résultats obtenus, nous pourrons conclure sur le réel comportement des souches inoculées. En cas de présence de bactéries lactiques sur MRS ou Mayeux, des profils PFGE sont envisagés dont le but de les comparer aux profils PFGE des souches inoculées.

#### Références bibliographiques

- Gill CO and Bryant J. 1992. The contamination of pork with spoilage bacteria during commercial dressing, chilling and cutting of pig carcasses. International Journal of Food Microbiology. 16:51-62.
- Gobat PF and Jemmi T. 1993. Distribution of mesophilic Aeromonas species in raw and ready-to-eat fish and meat products in Switzerland. International Journal of Food Microbiology. 20:117-20.
- Samelis J., Kakouri A., Georgiadou K.G., and Metaxopoulos J. 1998. Evaluation of the extent and type of bacterial contamination at different stages of processing of cooked ham. Journal of Applied Microbiology. 84:649-660.

#### Remerciements

Ce programme a été financé par l'Office de l'élevage et 3 industriels de la charcuterie partenaires du projet.

# Evaluation des risques liés à la production d'amines biogènes par des staphylocoques à coagulase négative isolés de fromages et salaisons

## S. CHRISTIEANS<sup>1</sup>, S. LEROY<sup>2</sup>, S. POCHET<sup>3</sup>, E. BEUVIER<sup>3</sup> ET R. TALON<sup>2</sup>

- (1) Association pour le Développement De l'Institut de la Viande, 10 rue Jacqueline Auriol, ZAC Parc Industriel des Gravanches, 63039 Clermont-Ferrand cedex 2, France.
- (2) INRA, UR 454 Microbiologie, F-63122 Saint-Genès Champanelle
- (3) INRA, UR 342 Recherche en Technologies et Analyses Laitières, BP 20089, F-39801 Poligny Cedex

#### Introduction

Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont présents dans les salaisons et les fromages où ils sont parfois utilisés comme ferments. Ils interviennent dans le développement des qualités organoleptiques assurant la typicité et la diversité de ces produits (1, 2). Cependant certaines études décrivent des souches de SCN isolées des aliments et exprimant des facteurs de risque (toxines, antibiorésistance, production d'amines biogènes) dont les déterminants génétiques peuvent être portés par des éléments génétiques mobiles (3, 4, 5, 6). Il est donc crucial d'évaluer la présence et l'expression de ces facteurs de risque chez les SCN. Ce travail est axé sur la capacité des souches de SCN productrices *in vitro* d'amines biogènes à les produire dans le saucisson sec.

#### Matériels et méthodes

Une collection d'une centaine de souches de SCN isolées de fromages, de salaisons et d'ateliers a été étudiée *in vitro* pour leur capacité à produire des amines biogènes. Les résultats de ce criblage ont montré que 8 souches produisaient des amines biogènes. Parmi les souches productrices, 3 isolées de saucissons ont été sélectionnées pour être testées dans le saucisson sec en conditions pilotes : deux *Staphylococcus equorum* et une *Staphylococcus epidermidis*. Une souche de *Staphylococcus capitis* fortement productrice d'amines en condition *in vitro* a servi de témoin.

Les 4 souches ont été ensemencées dans une mêlée composée de viande de porc (80%) et du gras de porc (20%), additionnée d'ingrédients avec une formulation basée sur les pratiques industrielles les plus couramment employées. Les 4 souches ont été testées individuellement à un taux d'inoculum de 10<sup>6</sup> ufc/g en association avec un *Lactobacillus sakei* à 10<sup>6</sup> ufc/g, mimant ainsi les ferments du commerce. Parallèlement à ces essais, des saucissons témoins ensemencés avec un ferment commercial ont été réalisés dans les mêmes conditions. Les produits ont suivi un procédé d'étuvage et de séchage classique : une fermentation à 22/24°C (6 jours) et un séchage à 13°C (25 jours).

Durant la période de fermentation et de séchage, des suivis physico-chimiques (pH, Aw) et microbiologiques (dénombrement de la flore lactique et les coques à Gram positif catalase positive : CGC+) ont été réalisés à 3 temps au cours du procédé (J0, J6 = fin étuvage et J30 = fin de séchage). Aux mêmes stades, le contrôle d'implantation des souches de staphylocoques (PCR, RAPD) et le dosage des amines biogènes (HPLC) ont été réalisés.

#### Résultats et discussion

Le bon déroulement du procédé technologique a été contrôlé en mesurant les caractéristiques physico-chimiques.

Pendant les 5 premiers jours de fermentation, le pH a diminué, passant de 5,8 à 5,2 ce qui correspond au développement des bactéries lactiques. Il s'est stabilisé au cours du séchage puis a augmenté en fin de séchage. Les valeurs de l'activité de l'eau (aw) en fin de séchage sont comprises entre 0,88 et 0,90. Ces valeurs de pH et d'aw sont conformes aux valeurs classiquement rencontrées dans le saucisson sec.

Les dénombrements de la flore lactique et des CGC+ montrent également une évolution classique, à savoir une augmentation de la concentration des bactéries lactiques au cours de l'étuvage, puis leur stabilisation au cours du séchage. Les CGC+ eux se maintiennent ou subissent une légère diminution entre l'étuvage et le séchage. Seuls les saucissons inoculés avec *S. capitis* ont présenté une diminution de la concentration en CGC+ en fin de séchage.

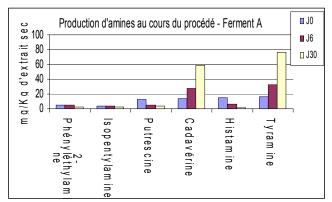
Parallèlement aux suivis physico-chimiques, le contrôle d'implantation des staphylocoques inoculés par PCR spécifique et RAPD a montré une implantation de J0 à J30 de *S. epidermidis* et des deux *S. equorum*, alors que *S. capitis* est présent jusqu'à la période d'étuvage mais pas en fin de séchage.

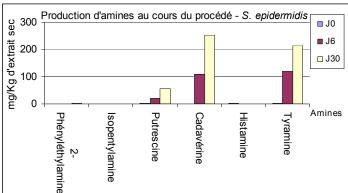
Le dosage des amines a montré que deux amines biogènes (cadavérine et tyramine) sont retrouvées à un taux significatif dans tous les saucissons. Elles pourraient être produites par les bactéries contaminant la matière première (non suivies dans cette étude). L'essai témoin inoculé avec le ferment du commerce composé d'un *S. xylosus*, d'un *S. carnosus* et

d'un *L. sakei* présente également ces deux amines (figure). De ce fait, les souches composant le ferment sont en cours de vérification pour leur capacité à produire des amines biogènes en condition de laboratoire.

La souche de *S. capitis* qui *in vitro* a produit de l'histamine produit cette amine biogène dans le saucisson. La souche de *S. epidermidis* produit de la cadavérine et de la putrescine *in vitro* et *in situ*. Cependant *in vitro* la souche produit surtout de la putrescine et peu de cadavérine alors qu'*in situ* c'est l'inverse (figure ).

Pour les deux souches de S. equorum, les amines produites in vitro ne le sont pas dans le produit.





#### Conclusion

Le criblage des souches SCN pour leur capacité à produire des amines biogènes *in vitro* a révélé que seulement 8% des souches présentent ce potentiel. *In situ* dans le saucisson, la souche de *S. capitis* (témoin d'origine clinique) et celle de *S. epidermidis*, deux espèces rarement isolées de produits alimentaires ont produit des amines biogènes. Les deux souches de *S. equorum*, espèce fréquemment isolée de fromages et de salaisons n'ont pas produit d'amine biogène *in situ*. La contamination de la matière première par divers microorganismes semble contribuer à la production d'amines biogènes dans le saucisson. La présence d'amines biogènes est fréquente dans les produits fermentés. Le taux mesuré dans les saucissons lors de cette expérimentation est modéré et ne constitue pas un risque sanitaire.

#### Références bibliographiques

- 1- Bockelmann W. 2002. Development of defined surface starter cultures for the ripening of smear cheeses. Int Dairy J 12 (2-3): 123-131.
- 2-Talon R., Leroy S. 2006. Latest developments in meat bacterial starters. In Advanced Technologies for Meat Processing, Eds. Nollet LML and Toldra F., CRC Press, Taylor and Francis group, New York. Chapter 16, pp 401-418.
- 3- Rodriguez M., Nunez F., Cordoba J.J., Bermudez E., Asensio M.A., 1996. Gram positive, catalase positive cocci from dry cured ham and their enterotoxigenic potential. Appl. Environ. Microbiol. 62, 1897-1902.
- 4- Vernozy-Rozand C., Mazuy C., Prevost G., Lapeyre C., Bes M., Brun Y., Fleurette J. 1996. Enterotoxin production by coagulase-negative staphylococci isolated from goat's milk and cheese. Int. J. Microbiol., 30, 271-280
- 5- Bertrand X., Mulin B., Viel J.F., Thouverez M., and Talon D. 2000. Common PFGE patterns in antibiotic-resistant *Enterococcus faecalis* from human and cheeses. Food Microbiology, 17, 543-551.
- 6- Silla Santos M.H. 1998. Amino acid decarboxylase capability of microorganisms isolated in Spanish fermented meat products. Int. of Food Microbiol. 39 (3): 227-230.

#### Remerciements

Cette recherche a été financée par des fonds de l'Agence Nationale de la Recherche, ANR-05-PNRA-005-2005.

# Sym'Previus DES ASSISTANTS INFORMATIQUES POUR ESTIMER L'EXPOSITION DU CONSOMMATEUR AUX DANGERS MICROBIENS

COUVERT O<sup>1</sup>, AUGUSTIN J.C. <sup>2</sup>, DENIS C. <sup>3</sup>, JAMET E. .<sup>4</sup>, PINON A.<sup>5</sup>, STAHL V.<sup>6</sup>,
THUAULT D. <sup>1</sup>, ZULIANI V. <sup>7</sup>

<sup>1</sup> ADRIA Développement Z.A De Creac'h Gwen F 29196 Quimper cedex Correspondant : cellule opérationnelle Sym'Previus, olivier.couvert@adria.tm.fr

<sup>2</sup> ENVA 7 avenue du Général de Gaulle F 94704 Maisons-Alfort Cedex

<sup>3</sup> ADRIA NORMANDIE Bd 13 juin 1944 F 14 310 Villers Bocage

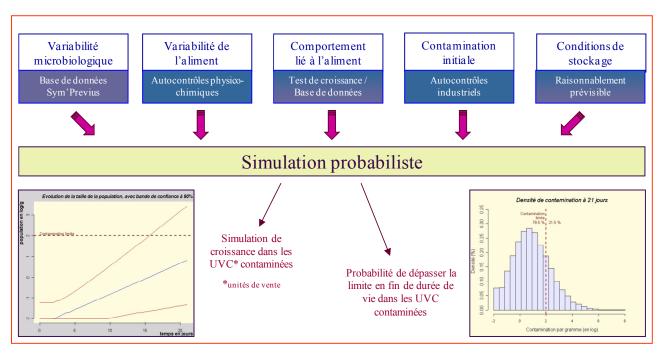
<sup>4</sup> ACTILAIT Technopole ALIMENTEC, Rue Henri de Boissieu F 01060 Bourg en Bresse

<sup>5</sup> Institut Pasteur de Lille 1 rue du professeur Calmette, BP 245 F 59019 Lille Cedex

<sup>6</sup> Aérial Parc d'Innovation Rue Laurent Fries BP 40443 F 67412 Illkirch Cédex <sup>7</sup> IFIP - Institut du porc 7 avenue du Général de Gaulle F 94704 Maisons-Alfort

La croissance bactérienne est influencée par des paramètres biologiques (contamination initiale, valeurs cardinales, taux de croissance optimum), par les caractéristiques de l'aliment (pH, a<sub>W</sub>, etc.) et par les conditions de stockage. Dans les conditions naturelles, ces paramètres et facteurs ne sont pas figés, mais au contraire, sont parfois extrêmement variables (variabilité de la contamination initiale, des souches, du pH et de l'a<sub>W</sub>, des conditions de conservation, etc). Cette variabilité engendre une multitude d'évolutions possibles de la contamination naturelle d'un aliment.

Une approche probabiliste associée aux modèles de microbiologie prévisionnelle (accessible sur le site Sym'Previus **www.symprevius.org**) permet d'estimer la probabilité pour qu'un aliment soit conforme ou non à une limite microbiologique fixée au moment de sa consommation.



#### Particularité de l'approche probabiliste

Le risque zéro n'existe pas. Dès qu'un aliment possède une prévalence bactérienne non nulle, alors il existe une probabilité de dépasser la limite microbiologique (réglementaire, GBPH, etc.) en fin de durée de vie.

Pendant que l'approche déterministe donne une réponse en tout ou rien (le produit dépassera/ne dépassera pas la limite), l'approche probabiliste estime la probabilité de dépasser cette limite, en intégrant les dispersions réelles mesurées sur site industriel.

Sym'Previus donne ainsi une réponse personnalisée, adaptée à la variabilité du produit et du site de production.

#### Des partenaires en réseaux :

Le G.I.S. Sym'Previus: Réseau des centres ITAI et ACTIA: Actilait / ADRIA Développement / ADRIA

NORMANDIE / Aérial / IFIP / Institut Pasteur de Lille Laboratoires publics : INAPG / INRA / ENVA / AFSSA

Industriels membres de UNIR association : Bel / Bongrain / Danone / Pernod Ricard

Pouvoirs publics : Ministères de l'Agriculture et de la Recherche

Le Réseau Mixte Technologique "expertise pour la détermination microbiologique de la durée de vie des aliments" regroupe 15 partenaires : ADRIA Développement, ADRIA Normandie, Aérial, Institut Pasteur de Lille, IFIP-institut du porc, ACTILAIT, ADIV, SSHA-ISHA, ARILAIT – CNIEL, ACTIA, ENVA, AFSSA, DGAL, EPLEFPA - ENIL de Saint Lô Thère, Lycée agricole Louis MAILLET. L'organisme porteur est Aérial et l'organisme d'affiliation, l'ACTIA. Il a pour objectifs d'optimiser et d'utiliser de façon complémentaire les différents outils d'aide à l'expertise (test de vieillissement et test de croissance, challenge-test procédé, microbiologie prévisionnelle).

# QUANTIFICATION DE LA DETECTION DE DANGERS BACTERIENS CONTAMINANT DES CARCASSES DE PORCS A L'AIDE D'INDICATEURS MACROSCOPIQUES

# FOSSE J., LAROCHE M., OUDOT N., ROSSERO A., MAGRAS C. UMR Sécurité des Aliments et Microbiologie (SECALIM 1014) Ecole nationale vétérinaire, INRA, Route de Gachet, BP 40307 cedex 3, Nantes, France.

#### Introduction

Le règlement (CE) 178/2002 a institué l'analyse des risques au long de la chaîne alimentaire comme fondement des politiques sanitaires européennes relatives à la sécurité des aliments. Dans un objectif de maîtrise des dangers pour le consommateur au sein des filières viandes, la suspicion de leur présence ou leur détection à l'abattoir sur carcasses constitue une étape essentielle (Fosse et Magras, 2004). Parmi les dangers biologiques susceptibles d'être transmis au consommateur de viande porcine, cinq d'entre eux sont caractérisés par des notes de risque pour le consommateur élevées (Fosse et al., 2008) : les Campylobacter spp. thermotolérants, Clostridium perfringens, Staphylococcus aureus, Salmonella enterica et Yersinia enterocolitica. A l'abattoir, les porcs sont gérés par lots, c'est-à-dire par groupes d'animaux de poids homogène, provenant d'un même élevage, transportés et abattus ensemble. La maîtrise de la qualité sanitaire des carcasses passe à la fois par des mesures de gestion appliquées au lot (bonnes pratiques d'hygiène lors des opérations de transformation, informations ante-mortem sur le lot) et des mesures individuelles comme l'examen macroscopique sanitaire de chaque carcasse. La détection sur carcasses des dangers peut s'appuyer sur la réalisation d'analyses bactériologiques, mais une détection / suspicion indirecte de leur présence à l'aide d'indicateurs macroscopiques lésionnels peut également être envisagée. La question de la valeur informative de ces indicateurs macroscopiques pour les cinq dangers bactériens sus-mentionnés est donc posée.

#### Matériel et méthodes

Vingt et un lots de porcs provenant de 12 élevages hors-sol ont été prélevés en fin de chaîne d'abattage, après l'étape d'inspection sanitaire et avant l'étape de ressuyage, dans 3 abattoirs du Grand Ouest. Pour chaque lot, 40 carcasses ont fait l'objet de prélèvements calibrés (5 x 5 cm sur 0,5 cm d'épaisseur), réalisés sans cautérisation à l'aide d'un gabarit, au niveau de la gorge (face externe : couenne) et de la poitrine (face interne : muscle droit de l'abdomen). Les deux tonsilles amygdaliennes (plaques amygdaliennes staphylines ; Montané *et al.*, 1964) ont également été prélevées.

Analyses bactériologiques: Les prélèvements de gorge et de poitrine, poolés par deux, sont utilisés pour la recherche et/ou dénombrement de Campylobacter spp., Clostridium perfringens, Salmonella enterica et Staphylococcus aureus, ceux de tonsilles, poolés par cinq, pour la recherche de Yersinia enterocolitica. Ces analyses respectaient les préconisations des normes NF et / ou ISO en vigueur. Pour Campylobacter spp., Staphylococcus aureus et Yersinia enterocolitica, une identification au rang de l'espèce et / ou du biotype, non développée ici, a été menée.

Indicateurs macroscopiques: ont été retenus les motifs des saisies, totale (ST) ou partielle (SP), prononcées par les services vétérinaires sur les lots analysés. Ces motifs ont été classés selon 2 catégories (Fosse et al. 2006): les motifs se rapportant à une saisie pour « viande préjudiciable pour la santé » (VPPS) incluant les abcès, les processus inflammatoires non stabilisés (PINS) et les souillures fécales (SF); les motifs se rapportant à une saisie pour « viande impropre à la consommation humaine » (VICH) dont la qualité organoleptique et/ou nutritionnelle insuffisante interdit la commercialisation.

Analyse statistique: Pour l'estimation de la prévalence, un lot a été déclaré positif pour le danger recherché quand au moins un pool de prélèvements (gorge ou bavette ou tonsilles) a été déclaré positif vis-à-vis du danger recherché. Après vérification de la normalité des distributions observées, des coefficients de corrélation ont été calculés et le test de Student a été utilisé pour leur comparaison.

#### Résultats - Discussion

Les prévalences de contamination des carcasses sont très variables en fonction de l'abattoir et du site de prélèvement (tab. I), à l'instar des taux de saisie (tab. II). Des différences de taux de saisie partielles sont observées, l'abattoir A prononçant significativement plus de saisies partielles et de motifs relevant de l'insalubrité des viandes.

**Tableau I** - Prévalences de contamination des carcasses observées en fonction du danger bactérien recherché, du site de prélèvement et de l'abattoir.

A la a44 a :	Campylol	Campylobacter spp.*		C. perfringens		S. enterica		ureus	Y. enterocolitica**
Abattoir	Gorge	Poitrine	Gorge	Poitrine	Gorge	Poitrine	Gorge	Poitrine	Tonsilles
Α	13 %	12 %	20 %	8 %	10 %	3 %	66 %	41 %	4 %
A	(115)	(115)	(115)	(115)	(115)	(115)	(115)	(115)	(46)
D	33 %	30 %	13 %	60 %	17 %	2 %	16 %	16 %	18 %
В	(111)	(111)	(111)	(111)	(111)	(111)	(111)	(111)	(45)
C	65 %	37 %	0 %	1 %	7 %	4 %	61 %	80 %	33 %
C	(106)	(106)	(106)	(106)	(106)	(106)	(106)	(106)	(42)

Légende : (n) : effectif de pools analysés; \* : souches confirmées par PCR (Denis et al., 1999); \*\* : souches confirmées par le CNR de la peste et autres yersinioses de l'Institut Pasteur et appartenant au biotype 4, sérotype O:3, lysotype VIII, potentiellement pathogènes pour l'homme

Tableau II - Taux et catégories de motifs des saisies prononcées pour les 21 lots en fonction de l'abattoir.

Abattoir	Lots	Total	Effectif	ST	SP		VPPS		VICH
Abattoir	suivis	abattu	total saisi	51	SI	Abcès	SF	PINS	VICH
A	8	837	37 (4,4 %)	1 (0,1 %)	36 (4,3 % <sup>a</sup> )	8 (1,0 % a)	6 (0,7 % <sup>a</sup> )	13 (1,6 % a)	10 (1,2 %)
В	7	927	23 (2,5 %)	2 (0,2 %)	21 (2,3 % <sup>b</sup> )	12 (1,3 % <sup>a</sup> )	0 (0 % b)	1 (0,1 % b)	11 (1,2 %)
C	6	934	28 (3,0 %)	1 (0,1 %)	27 (2,9 % <sup>b</sup> )	(0,1 % <sup>b</sup> )	8 (0,9 % <sup>a</sup> )	6 (0,6 % b)	13 (1,4 %)

Légende: a, b: taux de saisie significativement différents au seuil  $\alpha = 5$  % (test du  $\chi^2$  pour la comparaison de distributions).

Parmi les corrélations testées (tableau III), la corrélation négative statistiquement significative entre la prévalence de *Staphylococcus aureus* et les saisies pour abcès est notable, indiquant que la prévalence de ce danger est finalement faible une fois que les carcasses présentant des abcès ont fait l'objet de saisie.

**Tableau III** - Coefficients de corrélations entre les taux et motifs de saisie prononcés par les services vétérinaires et les prévalences de contamination des carcasses.

		Taux saisies	ST	SP	VPPS	Abcès	SF	PINS	VICH
Nombre de j	porcs abattus	- 0,104	0,434	- 0,172	- 0,110	0.128	-0.092	- 0.324	- 0,013
Poids moyer	n de carcasse	0.247	-0.262	-0.092	-0.265	0.253	-0.244	-0.159	
	Campylobacter spp.	- 0,005	- 0,145	0,017	- 0,105	- 0.256	0.391	-0.369	0,165
Prévalence	Clostridium perfringens	0,387	0,189	0,363	0,478	0.290	-0.016	0.495	- 0,069
sur gorge	Staphylococcus aureus	- 0,016	- 0,192	0,014	0,028	- 0.407	0.125	0.412	- 0,076
	Salmonella enterica	- 0,044	- 0,077	- 0,032	- 0,097	0.254	-0.149	-0.193	0,080
D ( 1	Campylobacter spp.	0,121	- 0,138	0,144	0,033	0.004	0.272	-0.314	0,175
Prévalence	Clostridium perfringens	0,261	0,308	0,216	0,349	0.110	-0.030	0.467	- 0,093
sur	Staphylococcus aureus	0,089	- 0,245	0,128	- 0,088	- 0.580	0.348	0.109	0,316
poitrine	Salmonella enterica	0,150	- 0,160	0,176	- 0,101	- 0.152	-0.037	0.080	0,454
Yersinia ent	erocolitica	0,023	- 0,281	0,067	- 0,071	0.048	0.154	-0.281	0,163

*Légende* : **en gras** : coefficients de corrélations significativement différents de 0 au seuil  $\alpha = 10$  % (test de Student)

Bien que notre échantillon d'étude soit limité, ce travail ne permet pas de mettre en évidence de fortes corrélations entre la prévalence sur carcasses des cinq dangers bactériens étudiés et la présence des indicateurs macroscopiques constitutifs de motifs de saisie. Elle confirme pour le danger *Salmonella*, la faible valeur informative des saisies quant à la présence de cette bactérie (Hamilton *et al.*, 2002 ; Jelsma *et al.*, 2006). Les corrélations observées suggèrent que *C. perfringens* serait plus fréquemment identifié sur les carcasses de lots faisant l'objet d'un taux de saisies important. Le caractère strictement artéfactuel de cette corrélation ne peut néanmoins à ce jour être exclu.

#### **Conclusions**

Les indicateurs macroscopiques liés aux saisies sanitaires ne sont que faiblement associés à la présence des cinq dangers bactériens recherchés, la définition d'autres indicateurs semble donc indispensable pour assurer la suspicion-détection de ces dangers sur les carcasses à l'abattoir.

#### Références bibliographiques

Denis, M., et al. 1999. Lett. Appl. Microbiol., 29(6):406-410.

Fosse, J., C. Magras. 2004. Dangers biologiques et consommation des viandes ; 1ère ed. Lavoisier, Paris.

Fosse, J., et al. 2006. Rencontres Recherches Ruminants, 13:411-4 [en ligne].

Fosse, J., et al. 2008. Vet. Res., 39:01.

Hamilton, D.R., et al. 2002. Vet. Rec., 151:110-116.

Jelsma, A., R. Lesuis, E. Ronteltap. 2006. Final report on the data analysis from the "visual inspection pilot". Food and Consumer Product Safety Authority (VWA), La Haye, Pays-Bas.

Montané, L., E. Bourdelle, C. Bressou. 1964. Anatomie régionale des animaux domestiques. Vol. III, le Porc ; 2<sup>ème</sup> ed. Baillière et fils, Paris.

#### Remerciements

- Au Ministère de l'Agriculture et de la Pêche (DGAI) pour le financement de cette étude.
- Aux abatteurs nous ayant ouvert leurs portes et aux services vétérinaires nous ayant transmis les données de saisie.
- A Elizabeth Carniel et Alexandre Leclercq, CNR de la peste et autres yersinioses, Institut Pasteur, pour la confirmation et le biotypage des souches de *Yersinia enterocolitica*.

# DIVERSITE GENOTYPIQUE DE SOUCHES DE CAMPYLOBACTER coli ISOLEES SUR DES PORCS EN ABATTOIRS : PREMIERS RESULTATS.

LAROCHE M. <sup>1</sup>, DESMONTS M. H. <sup>2</sup>, LEBIGRE M. <sup>1</sup>, ROSSERO A. <sup>1</sup>, MINVIELLE B. <sup>3</sup>, MAGRAS C. <sup>1</sup>

1- UMR ENVN / INRA 1014 SECALIM, BP 40706, 44307 Nantes Cedex 3
2- AERIAL, BP 40443, 67412 Illkirch Cedex - 3- IFIP - BP 35 104, 35 651 Le Rheu Cedex

#### Introduction

Des notes de risque moyennes calculées pour la viande porcine (Fosse et al., 2008) permettent de positionner de façon relative les dangers zoonotiques alimentaires en Europe et en Amérique du Nord. Campylobacter spp. thermotolérants occupent le troisième rang de cette hiérarchie, derrière les salmonelles et Yersinia enterocolitica. L'analyse des risques au long de la chaîne alimentaire doit conduire à mieux décrire le statut de contamination (prévalence, niveau de contamination, localisation) des viandes vis-à-vis de Campylobacter et à évaluer leur statut de dangerosité (profils génomiques, survie et virulence des souches) (Magras et Laroche 2006). La caractérisation du statut de contamination des viandes porcines a été conduite au stade de la première transformation (Minvielle et al., 2007) confirmant un portage intestinal très élevé quasi exclusif à C. coli (Magras et al., 2004, Alter et al., 2005) des porcs charcutiers entrant à l'abattoir. Cependant si sur les carcasses et les produits carnés porcins, C. coli reste l'espèce majoritairement isolée (Laroche et al., 2006, Minvielle et al., 2007), C. jejuni est plus fréquemment rencontrée, voire même C. lari (Nesbakken et al., 2003, Pezzotti et al., 2003). Cette diversité des espèces bactériennes et des souches peut provenir de contaminations croisées de la viande à partir de sources multiples tout au long de la chaîne de production. Il est donc intéressant d'affiner la caractérisation des souches isolées sur les produits primaires porcins afin d'identifier les sources potentielles de la contamination par Campylobacter.

Pour *Campylobacter sp.* une forte variabilité génétique est décrite (On, 1998), aussi l'analyse des profils de macro restriction obtenus par la technique d'électrophorèse en champs pulsés apparaît-elle intéressante dans le cadre d'échantillonnages ciblés avec une unité épidémiologique. Les travaux présentés proposent une méthode d'analyse des profils des souches de *C. coli* afin d'apporter les éléments d'une première caractérisation du statut de dangerosité des carcasses de porcs charcutiers.

#### Matériel et Méthodes

Origine des isolats de C. coli : les souches identifiées par PCR-multiplex (Denis et al., 1999) sont issues d'une campagne d'évaluation du statut de contamination ayant porté sur 250 porcs et leur carcasse prélevés à l'abattoir ayant l'entrée en ressuyage (Laroche et al., 2006). Les souches isolées (1 à 3 isolats / prélèvement positif) ont trois origines : le contenu digestif rectal (CD), un prélèvement calibré de surface de la carcasse en site interne (bavette B) et un prélèvement en site externe (gorge G). L'échantillonnage a été conduit dans 5 abattoirs, avec pour chaque abattoir 10 lots (L) de 5 porcs et leur carcasse, un lot correspond à un élevage. Echantillonnage pour le pulsotypage : tous les isolats d'un lot parmi les 10 pour chacun des 5 abattoirs ont été retenus. L'ADN génomique a été digéré avec l'enzyme de restriction Smal (Gibco). L'électrophorèse a été réalisée dans 1 gel d'agarose ultra pure avec un système CHEF DR II (Bio-Rad, Hercules, Calif) dans 1 tampon TBE 0,5 x; les conditions sont de 6,6 V/cm à 14-18° C avec des pulses alternatifs de 120 ° de 15 à 45 s pendant 20 h puis de 2 à 8 s pendant 2h avec comme marqueur lambda DNA ladder (Sigma). Paramètres de l'analyse des profils : Les profils obtenus après révélation par BET ont été analysés avec le logiciel BioNumerics v 3.5 (Applied Maths Kortrijk, Belgique) avec une tolérance de 1,7 % et une optimisation de 1 % selon le coefficient de similarité de Dice et la méthode UPGMA - (Unweighter Pair Group Method with Arithmetic averages). Un "clone" (C) est défini comme 2 ou 3 isolats provenant du même prélèvement et présentant le même pulsotype. L'effectif « N » d'isolats différents dans la population de souches de C. coli étudiée et le nombre « P » de profils différents observés sont calculés (Laroche et al., 2007, tab. I). L'indice de diversité D dans la population totale des souches de C. coli et dans les deux sous-populations - souches issues de contenu digestif (CD) et souches issues des prélèvements viande (V) - est calculé : D = P/N. La distribution des profils est ensuite décrite avec le nombre « Ri » nombre de répétitions d'un profil dans la population totale de souches - et la distribution au sein des sous-populations CD et V en fonction des lots.

#### Résultats et discussion

Pour les 45 prélèvements positifs (Pp) dont sont issus les 80 isolats pulsotypés (I), 65 isolats ont été déclarés différents (N) et 48 profils (P) sont observés, soit un indice de diversité global D = 0,74 (tab. I). La valeur de cet indice est comparable pour l'ensemble des souches de *C. coli* et pour celles issues des prélèvements de contenu digestif ou des prélèvements sur carcasse. **37** des 48 profils apparaissent une fois (R1), **6** apparaissent 2 fois (R2), **4** trois fois (R3) et **1** quatre fois (R4) (tab. II).

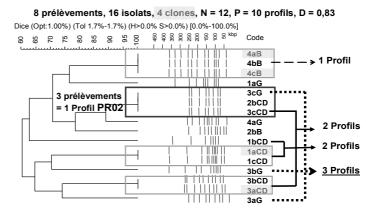
Bien que la diversité génétique des souches de *C. coli* observée soit particulièrement importante - 37 profils observés une fois (R1 tab. II) - de ces premiers résultats il ressort aux stades des produits primaires porcins (tab. II, fig. 1) :

- une contamination d'un même prélèvement ou même individu avec plusieurs profils – ex. : fig. 1 la gorge du porc 3 avec trois profils ; porc 1 avec deux profils sur CD.

- une stabilité de certains profils qui sont retrouvés dans des lieux géographiquement différents (ligne « lots différents »);
- une certaine communauté de profils entre des animaux d'un même élevage (ligne « même lot CD » ou fig. 1 animaux 2 et 3 avec même profil sur CD) même si cette communauté apparait bien moins forte que celle observée dans les élevages de poulets (Hook *et al.*, 2005) ;
- une contamination de la surface de la carcasse à partir du contenu digestif des animaux même individu ou intercontamination lignes « CD + V » du tableau II ; fig. 1 ex. animal 3 sur CD et sur G.

**Tableau I**: Répartition des effectifs d'isolats (I) de *C. coli* en fonction des prélèvements positifs (Pp) et valeurs des paramètres (C clones, N isolats différents, P profils et D indice de diversité) pour l'analyse des pulsotypes (CD = contenu digestif, V = viande gorge (G) ou bavette (B)).

	I	Pp	C	N	P	D=P/N
CD	49	24	10	39	31	0,79
V	31	21	5	26	21	0,81
Total	80	45	15	65	48	0,74



**Figure 1**: Exemple d'analyse d'un dendrogramme obtenu après macrorestriction avec l'enzyme Sma 1 des souches de *C. coli* isolées à partir d'un lot. Code intra-lot = animal, isolat, nature du prélèvement (CD, B, G). Les 4 isolats considérés comme clones sont grisés.

**Tableau II :** Nombre de répétitions d'un profil (Ri) et distribution des profils de *C. coli* par animal en fonction de l'origine des souches (contenu digestif CD et/ou viande V - G gorge ou B bayette , lot).

		R4 (1)		R3	(4)		R2 (6)				R1 (37)		
P		PR01	PR02	PR03	PR04	PR05	PR06	PR07	PR08	PR09	PR10	PR11	PRi
Même	CD	2	1				2	2					24
lot	V			3						2	1 (B+G)	1 (B+G)	13
	CD + V	1	1										
Lots	CD				3	1			1				
différents	V								1				
	CD + V					1							

Légendes : Ri(j) avec i = nombre de répétitions observées = 1 à 4, (j) = (nombre de profils répétés <math>i fois) ; V : observation du profil sur prélèvement viande si nécessaire précisée B+G ; CD+V=observation du profil sur prélèvement du CD et sur prélèvement(s) V du même individu.

#### **Conclusions**

La diversité génétique très importante de *Campylobacter coli* doit être prise en compte dans l'analyse du risque des infections par *Campylobacter* et du statut de dangerosité des viandes. Dans l'espèce porcine, une maitrise du transfert de la contamination des carcasses peut être assurée par le strict respect des règles d'hygiène lors de la mise en œuvre des process d'abattage. Au stade de l'élevage, l'identification des sources de la contamination des porcs en engraissement pourrait permettre d'envisager des moyens de maîtrise.

#### Références bibliographiques

Alter T., Gaull F., et al. 2005. Vet. Microbiol. 108: 251-261.

Fosse J., Seegers H., Magras C. 2008. Vet. Res., 39:01.

Höök H., Fattah M.A., et al. 2005. Vet. Microbiol., 106, 109-117

Laroche M., Minvielle B., et al. (2006). http://www.office-elevage.fr/vpc/11jsmtv/11JSMTV-H-COM4.pdf

Laroche, M., Desmonts M.H., et al. (2007). CHRO 2007. Zoonoses and Public Health 54: 27-27.

Magras C., Garrec N., et al. (2004). http://www.isah-soc.org/documents/2004/Magras.pdf

Magras C., Laroche M. (2006) Journées Techniques Campylobacter, AFSSA Ploufragan, France.

Minvielle, B., C. Magras, et al. (2007). Safe pork, Verona, (ISBN 978-88-6129-083-9): 145-148.

Nesbakken T., Eckner K., et al. 2003. Int. J. Food Microbiol. 80, 231-240.

On S.L.W., 1998. FEMS Microbiology Letters, 165, 341-346

Pezzotti G., Serafin A., et al. 2003. Int. J. Food Microbiol. 82: 281-287.

#### Remerciements

Aux industriels partenaires de l'étude ; à Florence Jugiau (ENVN), Christine Fassel (Aérial) pour leur aide technique ; au Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires Rurales, pour son soutien financier (AQS R02/06).

# TRAITEMENTS ASSAINISSANTS LOCALISES: INTERET DU PROCEDE "STEAM VACUUM" DANS LA GESTION DES SOUILLURES FECALES SUR CARCASSES

#### Le Roux A., Minvielle B., Lhommau T.

#### IFIP – Institut du porc, La Motte au Vicomte, BP 35104, 35561 Le Rheu Cedex, France.

#### Introduction

En 2006, trois procédés de traitement thermique localisé ont été testés sur carcasses, pièces brutes et pièces désossées-découennées. Si les résultats de cette étude montrent que ces traitements sont efficaces, ils peuvent présenter une alternative au traditionnel parage pratiqué par la majorité des entreprises pour traiter les carcasses présentant des souillures fécales visibles, point critique de l'abattage. L'IFIP se propose de valider un procédé alternatif utilisé en bovins et développé aux USA et au Danemark : le « steam vacuum ». Une évaluation objective de l'efficacité de la méthode en comparaison au traditionnel parage au couteau sera réalisée.

#### Matériels et méthodes

L'efficacité des pratiques (classique et alternative) est testée dans un seul abattoir au cours de 3 répétitions. A chaque répétition, 15 carcasses sont artificiellement contaminées au niveau de la poitrine pour simuler un incident d'éviscération avec présence de matières fécales. Un mélange de féces est réalisé dans un bac, puis il est appliqué avec une éponge au niveau de la poitrine sur la face externe (couenne) et interne (viande) de chaque demi-carcasse. Après 10 minutes de contact, l'une des demi-carcasses est traitée avec le steam vacuum en appliquant la tête de succion sur la surface souillée (projection de vapeur à 90°C et à 4 bars). Sur l'autre demi-carcasse, l'opérateur découenne la partie souillée à l'extérieur et pare la face interne. En parallèle, 15 carcasses témoins "exemptes de souillures fécales" sont prélevées. Pour chaque prélèvement (NF V04-501), deux flores ont été dénombrées : la flore mésophile totale (FMT) [NF V08-51] et les entérobactéries (ENT) [NF V08-54]. Une recherche de salmonelle [BLN 26/02-03/04] a également été réalisée (sauf pour les témoins). Les seuils de détection sont respectivement <400 et <4 ufc/cm² pour la flore aérobie mésophile totale et les Entérobactéries. Les analyses statistiques ont été réalisées par la procédure Chi-deux de SAS software version 8.02 (SAS Institute, USA).

#### Résultats et Discussion

Au cours de cette étude, la population bactérienne des carcasses témoins présente une proportion de résultat inférieur au seuil nettement supérieure à la proportion envisagée : 44% des résultats en flore aérobie mésophile totale et 13% en entérobactéries sur couenne et de 58% et 62% sur viande. Par contre, les dénombrements sur couenne et viande des carcasses souillées sont tous supérieures au seuil, ce qui ne permet pas de mesurer l'efficacité des traitements testés par une analyse de variance classique. Parallèlement, la faible prévalence en Salmonelles sur carcasses souillées (4% (2/45) et 13% (6/45) respectivement sur couenne et sur viande) n'a pas permis de mesurer statistiquement l'efficacité des traitements. Après traitement, un seul prélèvement (Viande / steam vacuum) est positif.

L'efficacité des traitements est classiquement calculée par la différence (en Log ufc/cm²) entre le niveau de contamination initial et le niveau de contamination obtenu après traitement. Les résultats inférieurs au seuil sont remplacés par la valeur du seuil, cette stratégie permet de garantir une efficacité minimale et les moyennes sont donc des « maxima ».

Tableau 1 : Moyennes observées selon le statut et la matrice.

	Couenne		Via	nde
	FMT	ENT	FMT	ENT
Carcasses souillées	5.5	4.9	5.2	4.2
Témoin	3.3	1.9	3.1	1.0
Parage	2.8	1.5	3.0	1.6
Steam vacuum	2.7	1.3	3.1	1.8

Le niveau de contamination moyen en Flore Totale et Entérobactéries des carcasses souillées apparaît supérieur de 2 à 3 Log à celui des carcasses témoins, quelle que soit la matrice (couenne ou viande) (Tableau 1). Pour la couenne, les 2 traitements permettent de retrouver le niveau de contamination des témoins. Sur la viande, le niveau d'entérobactérie après traitement reste plus élevé que le témoin. Pour le traitement au steam vacuum des petites particules de souillures peuvent rester visibles, ce qui peut expliquer ces derniers résultats.

Du fait du remplacement par les valeurs seuils, les efficacités observées (Tableau 2) doivent donc être considérées comme des « minima ». Le parage et le steam vacuum permettent d'atteindre des réductions d'environ 3 Log ufc/cm² sur couenne, et 2 Log ufc/cm² sur viande. Sur couenne, la diminution des entérobactéries semble plus marquée qu'en Flore totale.

Tableau 2 : Niveau d'efficacité des traitements selon les flores et la matrice.

	Cou	enne	Viande		
	FMT	ENT	FMT	ENT	
Parage	2.7	3.4	2.3	2.0	
Steam vacuum	2.8 3.6		2.1	2.5	

Les réductions, bien que sous-évaluées, sont en accord avec Phebus et al., (1997) qui trouvent une réduction de 2.5 Log ufc/cm² après parage au couteau et 3.7 Log ufc/cm² après « steam pasteurization » sur carcasses de bœuf. Sur la même matrice, Gill et al., (1996) n'avaient mis en évidence aucun effet du parage. James et al., (2000) trouvent une réduction de 1.7 Log ufc/cm² en traitant du blanc de poulet 10 seconde à la vapeur.

Au vu du nombre important de valeurs inférieures au seuil, la comparaison de l'efficacité des traitements est réalisée en comparant la répartition des valeurs inférieures ou supérieures au seuil [test du Chi-deux au risque global de 5%].

Tableau 3 : Répartition en % sur couenne selon le statut des carcasses par flores.

ourousses pur meros.							
		FMT	ENT				
	<400	>400		<4	>4		
Carcasses souillées		100	A *		100	A	
Témoin	44	56	В	13	87	A	
Parage	69	31	В	38	62	В	
Steam vacuum	96	4	C	44	56	В	

<sup>\*</sup> Les répartitions dans une même colonne avec une même lettre ne sont pas significativement différentes au risque global de 5%.

Tableau 4 : Répartition en % sur viande selon le statut des carcasses par flores.

carcasses par notes.							
	FMT			ENT			
	<400	>400		<4	>4		
Carcasses souillées		100	A *		100	A	
Témoin	58	42	В	62	38	В	
Parage	56	44	В	38	62	В	
Steam vacuum	58	42	В	38	62	В	

<sup>\*</sup> Les répartitions dans une même colonne avec une même lettre ne sont pas significativement différentes au risque global de 5%.

Sur couenne, pour la flore mésophile totale, le parage sur la couenne permet de ramener le niveau de contamination des carcasses souillées au niveau des témoins, et même significativement en deçà avec le steam vacuum. Concernant les entérobactéries, la répartition entre les témoins et les carcasses souillées n'est pas significativement différente (87% vs. 100% au-dessus du seuil). Le niveau de contamination n'est cependant pas similaire car 89% des témoins sont < 1 000 ufc/cm<sup>2</sup> contre 0.2% pour les carcasses souillées. Les moyennes respectives de 1.9 Log ufc/cm² et 4.9 Log ufc/cm² (tableau1) pondèrent bien cette répartition. Les 2 traitements ramènent les entérobactéries à un niveau inférieur aux témoins.

Sur viande, le niveau de contamination des carcasses souillées est significativement supérieur à celui des carcasses témoins. L'efficacité des deux traitements et pour les deux flores ramène la contamination anormalement élevée au niveau des témoins. Après traitement au steam vacuum des petites particules de souillures peuvent rester visibles et la surface de la viande est en partie dégradée de façon irréversible par la vapeur. Cependant, un parage superficiel de la partie traitée permet de pallier ce défaut d'aspect.

#### Conclusion

Les résultats obtenus permettent de valider l'efficacité du parage au couteau pour traiter les carcasses présentant des souillures fécales visibles. Le steam vacuum a une efficacité équivalente pour la flore mésophile totale et les entérobactéries et permet de préserver la valeur commerciale de la carcasse. Le steam vacuum peut donc être utilisé comme méthode alternative au parage traditionnel pour la gestion des carcasses présentant des souillures fécales. Cependant, une adaptation de la poignée est sans doute nécessaire afin de répondre aux exigences de sécurité lors de son utilisation.

#### Références bibliographiques

Phebus, R.K., Nutsch, A.L., Schafer, D.E., Wilson, R.C., Riemann, M.J., Leising, J.D., Kastner, C.L., Wolf, J.R., 1997. Journal of Food Protection, 60(5), 476-484.

Gill, C. O., Badoni, M., Jones, T., 1996. Journal of Food Protection 59, 666-669.

James, C., Göksoy, E.O., Corry, J.E.L., James, S.J., 2000. Journal of Food Engineering, 45, 111-117.

#### TRAITEMENTS THERMIQUES LOCALISES DES CARCASSES ET PIECES DE DECOUPE

#### Le Roux A., Minvielle B., Vallée A.

#### IFIP – Institut du porc, La Motte au Vicomte, BP 35104, 35561 Le Rheu Cedex, France.

#### Introduction

L'objectif de cette étude est de tester et/ou de mettre au point des traitements thermiques permettant de réduire la charge bactérienne à la surface des carcasses ou pièces commerciales. Le but est de traiter plus efficacement les non-conformités et/ou les lots à risques, et donc d'améliorer le niveau global d'hygiène. A partir des dispositifs et des procédures existantes, et d'essais complémentaires, les paramètres essentiels ont été déterminés : durée, température, distance procédé-produit. Des couples du type temps - distance ont été retenus pour chaque procédé et leur efficacité en terme de réduction de la contamination microbiologique évaluée.

#### Matériels et méthodes

Les procédés mis en place dans 4 ateliers pour traiter les non-conformités (pièces et carcasses tombées au sol essentiellement) ont été étudiés. Dans chaque atelier, les traitements ont été appliqués sur carcasse, et sur épaule côté couenne pour les pièces brutes et côté viande pour les pièces désossées. Pour chacune des méthodes, trois combinaisons de couple distance-temps ont été testées (Tableau 1).

Tableau 1: Temps et distance par traitement pour chacune des techniques selon la matrice.

,	Nivoou	Carcasse	Couenne	Viande
	Niveau Traitement	Distance / Temps	Distance / Temps	Distance / Temps
	1	15 cm / 2 s	15 cm / 2 s	5 cm / 2 s
Chalumeau	2	20 cm / 3 s	20 cm / 3 s	10 cm / 2 s
	3	25 cm / 3 s	25 cm / 3 s	15 cm / 3 s
	1	8 cm / 3 s	15 cm / 3 s	5 cm / 1,5 s
Flambeur	2	15 cm / 3 s	20 cm / 6 s	8 cm / 3 s
	3	20 cm / 6 s	20 cm / 3 s	20 cm / 3 s
	1		3 cm / 5 s	4 cm / 2 s
Décapeur	2		3 cm / 3 s	7 cm / 4 s
	3		5 cm / 5 s	7 cm / 2 s

Afin de fixer ces couples, en complément des procédures internes existantes, des essais avec prise de température étaient réalisés. Un premier couple critique (niveau 1) correspondant à un début de cuisson de la pièce (brunissement, fonte de la graisse, formation de cloques, ...) était fixé. A partir de celui-ci, deux autres couples (niveau 2 et 3) ont été fixés en faisant varier la durée et/ou la température. Trois procédés de traitement thermique des carcasses et pièces de découpe sont testés dans l'étude.

Les caractéristiques du matériel testées sont les suivantes : Flambeur [ Propane, Butane avec buse à large flamme] ; Chalumeau [Ripack 2000, Propane de 1,5 à 3,5 bars, Puissance max 56 KW]; Décapeur [Leister Electron 2A, 500L/min, Temp max=650°C].

Afin de déterminer l'efficacité du procédé pour un couple donné, des prélèvements de 25 cm² de viande ou de couenne étaient pratiqués sur chaque produit avant et après traitement. Dans chaque atelier, deux répétitions sont effectuées et pour chaque couple, six produits sont traités et prélevés. Pour chaque prélèvement, deux flores indicatrices de l'hygiène des procédés ont été dénombrées: la flore mésophile totale (FMT) [NF V08-51]et les entérobactéries (ENT) [NF V08-54]. Les analyses statistiques ont été réalisées par la procédure GLM de SAS software version 8.02 (SAS Institute, USA).

#### Résultats et Discussion

Du fait de la vitesse d'acquisition des températures, du positionnement des sondes thermocouples et des durées de traitements très courtes, les mesures de températures se sont révélées peu reproductibles et n'ont pas été interprétées en tant que telles. Du fait des très faibles niveaux de contamination initiale en entérobactéries, il n'a pas été possible d'analyser l'efficacité des traitements testés par analyse de variance. En effet, 65 % et 90 % des valeurs obtenues avant et après traitement étaient inférieures au seuil de dénombrements (4 ufc/cm²). Néanmoins, la répartition des dénombrements après traitement est statistiquement (Chi-deux) très différente (p<0,0001) de celle observée avant traitement

A partir des résultats du dénombrement en flore mésophile totale, l'efficacité des traitements est mesurée par la différence entre avant et après traitement: Efficacité (Log ufc/cm²) = Log FMT avant–Log FMT après.

Le résultat du dénombrement avant traitement est pris en compte, l'efficacité d'un traitement n'étant pas indépendante du niveau de contamination initiale qui varie en fonction de l'atelier et du type de pièce. L'effet des

différents procédés est très significatif et le traitement par procédé agit significativement pour les 3 produits. L'effet répétition intra entreprise et technique reflète la variabilité induite par le mode opératoire.

Tableau 2 : Réduction en FMT (Log ufc/cm²) de la contamination sur carcasses

containmation but carcustes									
	Flai	mbeur	Chalumeau						
Traitement	Nombre	Moyenne (1)	Nombre	Moyenne (1)					
1	12	1,77 a	12	2,42 a					
2	23	1,88 a	24	2,25 a					
3	30	0,76 b	12	2,40 a					

(1) Les moyennes ajustées affectées d'une même lettre ne sont pas différentes au seuil de 5 %.

Tableau 3: Réduction en FMT (Log ufc/cm²) de la contamination sur pièces brutes.

	Flambeur		Chal	umeau	Décapeur		
Traitement	Nombre	Moyenne (1)	Nombre	Moyenne (1)	Nombre	Moyenne (1)	
1	12	0,52 bc	12	1,96 a	12	2,08 a	
2	18	0,79 b	12	2,20 a	12	2,07 a	
3	18	0,00 с	12	2,12 a	12	1,69 a	

(1) Les moyennes ajustées affectées d'une même lettre ne sont pas différentes au seuil de 5 %.

Tableau 4 : Réduction en FMT (Log ufc/cm²) de la contamination sur pièces découennées-désossées.

	Flambeur		Cha	lumeau	Décapeur	
Traitement	Nombre	Moyenne (1)	Nombre Moyenne (1)		Nombre	Moyenne (1)
1	12	0,18 ef	12	1,49 a	12	1,04 abc
2	18	0,48 cde	12	0,81 bcd	12	0,48 cdef
3	24	0,00 f	12	1,35 ab	12	0,60 cde

(1) Les moyennes ajustées affectées d'une même lettre ne sont pas différentes au seuil de 5 %.

Deux méthodes d'assainissement thermique sont testées sur les carcasses, l'une avec le chalumeau et l'autre appareil dénommé «Flambeur » dans l'étude. L'efficacité n'est pas significativement différente entre les traitements 1 et 2 du flambeur et les 3 traitements du chalumeau, avec 2 Log de réduction environ (Tableau 2). Le traitement 3 du flambeur est significativement moins efficace que les deux autres couples distance-temps, en raison d'une distance certainement trop importante (20 cm) qui n'est pas compensée par un temps d'exposition plus long (6s vs 3s).

Pour les pièces brutes, 3 méthodes sont testées : chalumeau, flambeur et décapeur thermique. Les moyennes de la réduction de la contamination se trouvent dans le tableau 3. Globalement, quels que soient les traitements, le décapeur et le chalumeau n'ont pas des efficacités significativement différentes, avec 2 Log environ de diminution de la contamination. En revanche, le flambeur est significativement moins efficace que les deux autres techniques, le traitement 3 ayant même une efficacité nulle.

Au niveau des pièces découennées et désossées, la situation est moins nette. La maîtrise du temps pour le traitement 1 est difficile car très court, et le moindre dépassement provoque une dégradation immédiate de la pièce par la cuisson. Globalement, comme pour les pièces brutes, le chalumeau et le décapeur ont des efficacités proches. L'efficacité des différents traitements avec le chalumeau et le décapeur permet une réduction du niveau de contamination en flore mésophile totale de 0.5 à 1.5 Log.

Les traitements avec le flambeur n'atteignent pas plus de 0,5 Log (Tableau 4). Les techniques avec flammes dégradent rapidement la viande de façon irréversible, l'usage d'un décapeur thermique permet de pallier cet inconvénient, tout en maintenant une efficacité correcte. Dans la pratique et quelles que soient la matrice et la technique, les traitements de niveau 1 sont difficilement applicables pour les techniques avec flammes sans brûler la surface traitée. Pour chacune des techniques testées, le traitement 2 est recommandé avec une réduction de 2 Log pour les carcasses et pour les pièces brutes, et de 1 Log pour la viande.

#### Conclusion

Les résultats de cette étude montrent que les techniques avec flammes sont adaptées au traitement des surfaces importantes avec couenne comme la carcasse. Sur pièces de découpe, le décapeur thermique par son absence de flamme permet, pour une efficacité équivalente, un gain de temps et une application mieux maîtrisée qu'une technique avec flamme.

# ETUDE DE LA CROISSANCE ET DE LA SURVIE DE SOUCHES ESCHERICHIA COLI PRODUCTRICES DE SHIGA-TOXINES (STEC) ACIDO-RESISTANTES OU NON DANS DES SAUCISSONS SECS ARTIFICIELLEMENT CONTAMINES

# M.P. MONTET<sup>1</sup>, D. THEVENOT<sup>1</sup>, V. COPPET<sup>2</sup>, S. GANET<sup>1</sup>, M.L. DELIGNETTE MULLER<sup>1</sup>, S. CHRISTIEANS<sup>2</sup>, S. MISZCZYCHA<sup>1</sup>, AND C. VERNOZY-ROZAND<sup>1</sup>

- (1) Unité de Microbiologie Alimentaire et Prévisionnelle, Université de Lyon Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon 69280, Marcy l'étoile, France.
- (2) Association pour le Développement De l'Institut de la Viande, 10 rue Jacqueline Auriol, ZAC Parc Industriel des Gravanches, 63039 Clermont-Ferrand cedex 2, France.

#### Introduction

Escherichia coli O157: H7 a été reconnu comme agent pathogène entérique humain en 1982 et il est toujours une cause de graves maladies gastro-intestinales. Dans la dernière décennie, des infections causées par *E. coli* O157: H7 sont apparues comme un problème majeur de santé publique en Amérique du Nord et en Europe. En Europe continentale, les infections par des non-STEC de sérogroupes O157 et O26 sont, quant à elles, plus fréquentes. *E. coli* O157: H7, un contaminant au moment de l'abattage, crée donc un défi particulier pour la filière des produits fermentés à base de viande qui ne reçoivent pas de traitement thermique et dont la sécurité sanitaire reste basée uniquement sur les procédés de fermentation et du séchage.

Pourtant, les produits fermentés à base de viande ont longtemps été considérés comme relativement sûrs en raison de leur faible pH, de leur faible activité de l'eau (aw) et de la présence de sels (nitrites, nitrates). Toutefois, certaines souches STEC acido-résistantes peuvent survivre lors de la production de saucissons secs. Selon le type de saucissons, les procédés de fabrication diffèrent (calibre, durée, paramètres technologiques,...); cette variabilité peut engendrer des différences de comportement et notamment au niveau de la réduction des souches STEC.

La fermentation et le séchage sont reconnus pour réduire le nombre d'*E. coli* O157: H7 de 1-2log10/g de produit. Cependant, peu d'études ont été menées sur les sérogroupes autres que O157; ainsi l'objectif de cette étude a été d'examiner l'effet du procédé de fabrication de saucissons secs fermentés sur la survie de souches STEC résistantes à l'acide (AR) et non résistantes à l'acide (NAR).

#### Matériels et méthodes

Une collection de 62 STEC a été testée. Pour évaluer leur capacité à survivre à une exposition acide, le protocole décrit par Castanie et *al.* a été utilisé. Cette phase a permis de sélectionner 3 souches STEC acido-résistantes (AR) et 3 souches STEC non acido-résistantes (NAR). Après avoir préparé chaque inoculum, les 6 souches de STEC ont été ensemencées séparément dans la mêlée et selon trois répétitions soit un total de 26 lots de saucissons de porc (82% de maigre, 18% de gras) avec une formulation basée sur les pratiques industrielles les plus couramment employées. Sur ces 26 lots (9 séries inoculées avec les souches AR, 9 séries inoculées avec les souches NAR et 8 séries témoins non inoculés), les produits ont suivi un procédé d'étuvage et de séchage classique : une fermentation à 24°C (6 jours), un séchage à 13°C (25 jours) et une période de conservation à 10 ° C pendant 30 jours (J60).

Les suivis physico-chimiques et microbiologiques ont été réalisés à différents temps au cours du procédé. Le comptage et la détection des STEC ainsi que les suivis physico-chimiques (pH, aw) ont été réalisés au jour 0, tout au long de la fermentation (J1, J2, J3 et J5), au milieu et à la fin de la phase de séchage (respectivement J15 et J30) et à J60.

#### Résultats et discussions

Concernant les caractéristiques physico-chimiques des saucissons témoins, pendant les 5 premiers jours de fermentation, le pH a diminué, passant de 5,83 à 4,9, et l'activité de l'eau de 0,95 à 0,90. En effet, à des températures de l'ordre de 24°C, la croissance de bactéries lactiques ajoutées (ferment) est accélérée entrainant ainsi une diminution du pH.

Le pH est ensuite resté stable (entre 4.95 et 4.98) à partir du milieu de la fermentation (jour 3) jusqu'à la mi-période de séchage (jour 15). L'activité de l'eau a été constante (0,93, 0,90 et 0,89) pour le 3<sup>ème</sup>, 6 <sup>ème</sup> et 15 <sup>ème</sup> jour. Entre le milieu et la fin du séchage (du jour 15 au jour 30), le pH a augmenté, passant de 4,99 à 5,22 du à la consommation d'acide lactique par les levures et l'activité de l'eau a diminué, passant de 0,89 à 0,85, liée à la prolongation de la période de séchage.

Au cours de la conservation, le pH a augmenté au cours du stockage de 5,22 à 5,46 (jour 30 à 60 jours), l'activité de l'eau est descendue à 0,80 pour une perte de poids d'environ 30%.

Parallèlement aux suivis physico-chimiques, les suivis microbiologiques des souches inoculées montre une diminution rapide du nombre de souches STEC AR et NAR, de 1 à 1,5 log10<sub>10</sub> ufc / g au cours des 5 premiers jours de fermentation à 20-24 ° C. Ceci est en accord avec d'autres études (Muthukumarasamy and Holley, 2007) lesquelles ont également signalé la même unité de réduction pour *E. coli* O157: H7 à la fin de la fermentation. Cette réduction s'est prolongée mais de façon plus progressive durant la période de séchage à 13-14 ° C. Plus précisément, cette diminution était de 0,5 à 2,5 log<sub>10</sub> ufc/ g et de 2 à 4 log<sub>10</sub> ufc/ g respectivement pour les souches STEC AR et NAR. Le changement d'inactivation entre les deux périodes peut être dû aux changements des facteurs environnementaux entre ces périodes (passage de 20-24 ° C à 10-15°C).

Les dénombrements ont été inférieurs à 10 log<sub>10</sub> ufc/ g au bout de 30 jours pour les STEC NAR et de 60 jours pour les STEC AR. De plus, après 60 jours, il y avait absence de STEC NAR, vérifiée par une phase d'enrichissement.

#### **Conclusions**

Les souches STEC acido-résistantes semblent avoir une meilleure résistance au stress que celles qui sont non acido-résistantes.

Bien que le procédé de la fermentation et du séchage du produit peut réduire le risque de présence d'agents pathogènes, dans de nombreux cas, il ne permet pas de les éliminer complètement, lorsque la concentration de départ est élevée (4 log<sub>10</sub> ufc/g). La présente étude a montré que les processus de fabrication des saucissons secs français causaient une destruction complète des STEC NAR au bout de 60 jours, mais qu'ils n'avaient pas un effet destructeur complet sur souches STEC AR (persistance). La contamination des saucissons avec de grandes populations de STEC pose donc un risque pour la santé des consommateurs. C'est pourquoi, la présence de STEC, même de temps en temps et avec une faible dose infectieuse au moment de la consommation, ne peut être tolérée. Des actions devraient donc être engagées pour réduire l'ampleur de la contamination à l'abattoir, en améliorant les normes d'hygiène et de la procédure de contrôle.

#### Références bibliographiques

Castanie-Cornet, M. P., T. A. Penfound, D. Smith, J. F. Elliott, and J. W. Foster. 1999. Control of acid resistance in Escherichia coli. Journal of Bacteriology. 181:3525-35.

Faith, N. G., N. Parniere, T. Larson, T. D. Lorang, C. W. Kaspar, and J. B. Luchansky. 1998. Viability of Escherichia coli O157:H7 in salami following conditioning of batter, fermentation and drying of sticks, and storage of slices. Journal of Food Protection. 61:377-82.

Fernandez, M., J. A. Ordonez, J. M. Bruna, B. Herranz, and L. de la Hoz. 2000. Accelerated ripening of dry fermented sausages. Food Science and Technology. 11:201-209.

Glass, K. A., J. M. Loeffelholz, J. P. Ford, and M. P. Doyle. 1992. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 as affected by pH or sodium chloride and in fermented, dry sausage. Applied Environmental Microbiology. 58:2513-6.

Hinkens, J. C., N. G. Faith, T. D. Lorang, P. Bailey, D. Buege, C. W. Kaspar, and J. B. Luchansky. 1996. Validation of pepperoni processes for control of *Escherichia coli* O157:H7. Journal of Food Protection. 59:1260–1266.

Muthukumarasamy, P., and R. A. Holley. 2007. Survival of Escherichia coli O157:H7 in dry fermented sausages containing micro-encapsulated probiotic lactic acid bacteria. Food Microbiology. 24:82-8.

Riordan, D. C., G. Duffy, J. Sheridan, B. S. Eblen, R. C. Whiting, I. S. Blair, and D. A. McDowell. 1998. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture of pepperoni. Journal of Food Protection. 61:146-51.

#### Remerciements

Cette recherche a été financée par des fonds de l'Agence nationale de la recherche [ANR-05-PNRA-021 (2005)] et par le pôle de compétitivité InnoViandes.

# PRODUCTION ET UTILISATION DE MUSCLES A LONGUE DLC ISSUS DE VIANDES BOVINES FRANCAISES

# PICGIRARD L. <sup>1</sup>, RENERRE M. <sup>2</sup> <sup>1</sup>ADIV – 10 rue Jacqueline Auriol – 63039 Clermont-Ferrand cedex 2 <sup>2</sup> INRA, Unité QuaPA – 63122 St Genès Champanelle

#### Introduction

C'est face à des difficultés d'approvisionnement sur le marché national et un maintien du déséquilibre avant/arrière au niveau de la demande que les industriels ont tendance à orienter leurs approvisionnements vers des muscles de découpe importés sous vide à longue DLC (Date Limite de Consommation) en provenance d'Europe ou d'Amérique du Sud. Or, l'utilisation de muscles sous vide à longue DLC n'est pas sans conséquence sur la stabilité microbiologique et surtout la couleur des UVC (Unités de Vente Consommateurs) qui en sont issues et qui sont elles mêmes conditionnées sous vide ou sous atmosphère (phénomènes de verdissement).

Les objectifs de l'étude sont de plusieurs ordres : identifier les inconvénients techniques dus à l'utilisation de viandes sous vide à longue DLC, définir des prescriptions techniques pour produire des muscles à longue DLC à partir de viandes françaises non décontaminées, préconiser des solutions pour utiliser ces muscles en vue de leur tranchage ou de leur conditionnement, en conservant leur couleur rouge vif.

Pour optimiser la conservation des muscles, les travaux de Gill (1), Penney (2), ou Jeremiah (3) ont été utilisés. Mais aucune de ces études ne s'est intéressée au comportement des produits tranchés conditionnés sous vide ou sous atmosphère lorsqu'ils sont issus de muscles à longue DLC.

#### Matériels et Méthodes

Plusieurs facteurs technologiques ont été étudiés : la méthode de maturation des muscles avant le stockage sous vide longue durée : 10 jours à l'état carcasse à 0/+1°C ou 10 jours en sachet sous vide à -1,5°C ; la durée de stockage des muscles à -1,5°C : 20 jours, 40 jours ou 90 jours ; le mode de conditionnement des tranches : sous vide, sous atmosphère modifiée (70 %  $O_2$  et 30 %  $O_2$  ou 50 %

Tous les muscles provenaient de vaches montbéliardes âgées de 5 ans en moyenne. L'entrecôte seulement a été utilisée pour les essais.

L'évolution microbiologique en surface des muscles, l'exsudation sous vide et le pH des muscles ont été mesurés au cours du stockage. Les flores ont été dénombrées après excision de surface selon des méthodes normalisées : flore totale (Norme NF EN ISO 4833), *Pseudomonas* (Norme NF V 04-504), entérobactéries (Norme NF V08 054), *Brochothrix thermophacta* (Norme NF V04 505), flore lactique (Norme NF ISO 15 214).

L'exsudat, la couleur à l'aide d'un chromamètre Minolta CR 200 et la péroxydation lipidique grâce à l'indicateur TBARS (Gatelier et al.(4)) ont été mesurés sur les viandes tranchées au cours de leur stockage pendant 14 jours à +4°C.

#### Résultats et discussions

Il semble possible, avec des viandes françaises, d'accéder à des DLC d'entrecôtes sous vide proches de 75 jours, si : i) les muscles sont traités précocement et continûment, par le froid, ii) le délai entre l'abattage et le stockage des muscles sous vide est inférieur ou égal à 3 jours, iii) la température de stockage est proche de -1,5°C, iv) la contamination initiale des muscles sous vide en surface est inférieure à 16 UFC/g pour *pseudomonas* et 10 UFC /g pour les entérobactéries. Dans ces conditions, les muscles sous vide exsudent 3 % de leur poids après 90 jours de stockage.

Des DLC supérieures de l'ordre de 90 jours, comparables à celles de viandes sud-américaines, pourraient malgré tout être envisagées s'il était possible de limiter le développement des entérobactéries lors du stockage à -1,5 °C ou de réduire leur population initiale lors du conditionnement des muscles entiers. Concernant l'évolution microbiologique de surface des muscles sous vide, le mode de maturation des muscles avant stockage sous vide de longue durée a une incidence nette sur la croissance des flores. Ainsi, il semblerait qu'une prématuration carcasse de 10 jours favorise le développement de *Brochothrix*, et à un degré moindre de *Pseudomonas*, en surface des muscles alors qu'une prématuration sous vide de même durée favoriserait plutôt le développement des entérobactéries (cf. figures 1a, 1b, 1c). Le taux de *Pseudomonas* de 10<sup>5</sup> UFC /g enregistré en surface des entrecôtes après 10 jours de prématuration en carcasse et 90 jours de stockage sous vide n'a pas induit de défauts d'aspect.

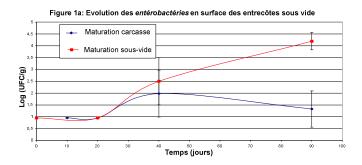


Figure 1b: Evolution des Pseudomonas en surface des entrecôtes sous vide

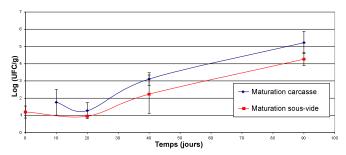
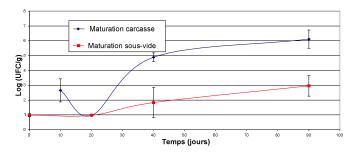


Figure 1c: Evolution de Brochothrix thermosphacta en surface des entrecôtes sous vide



Le conditionnement le plus adapté aux produits tranchés issus de muscles sous vide stockés durant de longues durées est <u>le conditionnement sous atmosphère modifiée sous mélange gazeux 50 % N2/50 % CO2</u> tant pour des raisons organoleptiques que visuelles. Leur couleur est pourpre mais stable.

La peroxydation lipidique est la plus faible (< 1mg MDA/kg de viande). L'exsudat atteint 1 % après 14 jours de stockage à +4°C. Si les tranches sont issues de muscles stockés 90 jours à -1,5°C, l'acceptabilité visuelle reste correcte après 12 jours à +4°C et les propriétés sensorielles sont les meilleures après 8 jours à +4°C

Le conditionnement sous atmosphère modifiée sous mélange gazeux 70 % O<sub>2</sub> / 30 % CO<sub>2</sub>, n'est globalement pas adapté. La DLC envisageable à +4°C, après un stockage des muscles sous vide 40 jours à -1,5 °C est inférieure à 8 jours. La peroxydation lipidique atteint 2,5 mg MDA/kg de viande pour des tranches issues de muscles stockés 40 jours.

Le conditionnement des tranches sous vide donne des résultats proches mais pas aussi performants que ceux obtenus sous atmosphère modifiée sans oxygène. Les pertes de poids atteignent 3,3 % après 14 jours à +4°C. L'acceptabilité visuelle n'excède pas 8 jours à +4°C car les exsudats s'oxydent. Pourtant, les valeurs de MDA restent basses (< 1mg MDA/kg de viande). De même, un goût de viande faisandée apparaît après 8 jours à +4°C. Ce phénomène est probablement dû à la faible imperméabilité des sachets (50 cm³/m²/24 h). Des résultats plus intéressants ont peu être obtenus avec des sachets « barrière » (15 à 25 cm³/m²/24 h).

Pour ces conditionnements, le mode de déballage des viandes peut permettre d'améliorer la couleur des UVC. Un tranchage rapide après « dessouvidage » pour les viandes piécées conditionnées sous mélange gazeux 50 % N<sub>2</sub> / 50 % CO<sub>2</sub> est conseillé. Un tranchage différé de 24 h après déballage est préférable pour les tranches conditionnées sous vide ou operculées en présence d'oxygène.

Enfin, le pré-stockage après abattage à l'état de carcasse doit être réduit au maximum pour les produits conditionnés en absence d'oxygène (sous vide ou sous atmosphère modifiée) alors qu'il a plutôt tendance à améliorer la couleur des UVC operculées sous mélange gazeux avec oxygène.

#### Conclusion

Si la couleur des entrecôtes est restée acceptable après un stockage de 90 jours à -1,5°C à l'état entier et de 14 jours à +4°C à l'état tranché sous mélange gazeux 50 %  $N_2$  / 50 %  $CO_2$ , cette stabilité mériterait d'être vérifiée sur d'autres muscles de couleur plus instable tels que le filet ou le dessus de palette.

#### Remerciements

Cette étude a été conduite grâce au soutien financier d'INTERBEV et de l'Office de l'Élevage.

#### Références

- (1) Gill CO & Jones T., 1997. The display life of retail packaged beef steaks after their storage in master packs under various atmosphere. Meat Science 38 (3). p 385-396;
- (2) Penney N. and al., 1997. Performance during retail display of hot and cold boned beef striploins after chilled storage under vacuum or carbon dioxide packaging. Food Res. Int. 31. p 521-527;
- (3) Jeremiah L.E., 2001. Packaging alternatives to deliver fresh meats using start or long term distribution. Food Res. Int. 34 (9). P 749-772;
- (4) Gatelier P., Mercier Y., Juin H. Renerre M., 2005. Effect of finishing mode (pasture or mixed diet) a lipid composition, colour stability and lipid oxidation in meat from charolais cattle. Meat Science 69 (1). p 175-186.

# TEST DE CROISSANCE DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* SUR LE JAMBON SEC SALE AVEC OU SANS SALPÊTRE

# ROBERT N.<sup>1</sup>, BASLY S.<sup>1</sup>, GASC G.<sup>2</sup>, THEAU-AUDIN S.<sup>2</sup>, DUTERTRE C.<sup>1</sup>

(1) INPAQ - Consortium du Jambon de Bayonne - PYRAGENA, 64410 Arzacq (2) Laboratoire Adour Bio Conseil, 64410 Arzacq

#### Introduction

La maîtrise des risques de contaminations des aliments par les micro-organismes pathogènes tel que Listeria monocytogenes (L.m.) est un problème crucial dans l'industrie agroalimentaire. La réglementation laisse à chaque professionnel la responsabilité de fixer la date limite de consommation (DLC) des produits qu'il commercialise. L'obligation du fabricant est de prouver que le produit est conforme aux critères microbiologiques réglementaires lorsque sa DLC est atteinte. L.m. est une bactérie largement présente dans l'environnement. Contrairement à la plupart des bactéries, elle peut survivre et proliférer sur les aliments conservés au réfrigérateur. Elle peut commencer à se multiplier dès 1°C. Les aliments contaminés ont une apparence, une odeur et un goût normaux. L.m. est reconnue comme agent pathogène chez l'homme et l'animal depuis plusieurs décennies. Elle est responsable de la listériose, une maladie d'origine alimentaire relativement rare mais grave sur le plan clinique. Une grande diversité d'aliments peuvent être contaminés par cette bactérie mais normalement en très petite quantité (moins d'une unité formant colonie (ufc) par gramme d'aliment) : produits laitiers, produits carnés, poissons, légumes crus... Les flambées et les cas sporadiques de listériose semblent cependant être associés surtout à des produits prêts à consommer n'ayant pas subi de traitement listéricide telle que la cuisson. Au sein des ateliers de salaison, l'implantation de cette bactérie est favorisée par l'humidité, la température et la présence de nutriments. Dans les produits séchés à consommer en l'état tel que le jambon sec, les risques sont à priori faibles grâce au cumul des facteurs sécurisants mais des précautions sont peut être à prendre lorsqu'il y a des modifications dans le process de fabrication, comme ici la suppression du salpêtre dans le mélange salant. Face à ce risque sanitaire potentiel, le principal objectif de l'étude est de comprendre et d'évaluer le comportement de Listeria en fonction des différentes caractéristiques du produit : teneur en humidité et activité de l'eau (Aw) des produits, présence ou non de salpêtre dans le mélange salant, mode de conservation des produits.

#### Matériels et Méthodes

La fabrication du jambon sec commence par le salage en apport illimité (1 jour / Kg + 2 jours à 3°C, hygrométrie comprise entre 85 et 95 %). Les jambons droits sont salés avec un mélange salant contenant 0,5 % de salpêtre (KNO<sub>3</sub>) et les jambons gauches sont salés avec un mélange salant sans salpêtre. La phase suivante est le repos (10 semaines à 3°C, hygrométrie comprise entre 70 et 80 %) au cours de laquelle le sel diffuse dans les parties internes du jambon. Puis commence la phase chaude qui comporte 1 semaine d'étuvage à 20°C (hygrométrie comprise entre 60 et 70 %) et 9 semaines de séchage à 14°C (hygrométrie comprise entre 68 et 76 %). A la 22ème semaine, les jambons sont pannés. La surface musculaire du jambon est graissée ce qui permet de limiter la dessiccation et de répartir de façon homogène l'humidité entre le cœur et la surface du jambon. Commence alors la phase d'affinage (17 semaines à 18°C pour une durée totale de fabrication de 9 mois, hygrométrie inférieure à 70 %) au cours de laquelle le séchage se poursuit. C'est également au cours de cette phase que l'arôme du produit se développe. Les jambons sont ensuite désossés, moulés et conditionnés en briques avant tranchage.

Le test de croissance réalisé ici évalue l'accroissement de la population de *Listeria monocytogenes* dans différentes conditions prédéfinies par le protocole expérimental au cours de la durée de vie du produit jusqu'à sa DLC (120 jours). Après tranchage, les jambons sont inoculés artificiellement avec une culture connue de ce micro-organisme selon un protocole basé sur un avis de l'AFSSA du 9 mars 2005 relatif à la classification des aliments selon le danger représenté par *L.m.* Pour cela, une souche de *L.m.* est isolée à la station expérimentale PYRAGENA. La culture préparatoire des souches s'effectue à 30°C dans un milieu « cœur cerveau » (milieu BEA), jusqu'à l'obtention d'une population en phase post-exponentielle de croissance. Après dilution dans un milieu tryptone-sel, L.m. est inoculée de façon homogène sur toute la surface des jambons (salés avec ou sans salpêtre). Les barquettes contiennent 4 tranches de jambon dont on a noté précisément le poids pour réaliser l'inoculation en fonction du grammage de produit. Après inoculation, les produits sont conditionnés sous vide ou sous atmosphère protectrice (80 % N<sub>2</sub> et 20 % CO<sub>2</sub>) et sont conservés à 8°C. Après 3 semaines, la moitié des produits est laissée pendant 3 jours à température ambiante (rupture de la chaîne du froid), puis est remise à 8°C, l'autre moitié reste à 8°C pendant toute la durée du test (120 jours). 3 échantillons sont analysés à chaque stade.

Une recherche de *Listeria monocytogenes*, sur gélose ALOA, est réalisée avant inoculation des produits. Un dénombrement, sur gélose ALOA, est réalisé juste après l'inoculation des produits, puis tous les 30 jours jusqu'à 120

jours (DLC testée). Le dénombrement est réalisé sur l'ensemble du produit contenu dans la barquette pour parer à l'éventuelle hétérogénéité de l'ensemencement.

### Résultats et Discussion

Les recherches de *Listeria monocytogenes* dans les échantillons témoins se sont toutes révélées négatives. Après dénombrement à J0 des *L.m.* sur les échantillons venant juste d'être ensemencés, on en retrouve entre 80 et 370 par gramme de jambon. Cette concentration dans le produit fini permettra une précision de dénombrement suffisante pour l'ensemble de l'essai (J30, J60, J90 et J120).

Que les jambons soient salés avec ou sans salpêtre, la diminution de *L.m.* est significative dès J30 et se poursuit jusqu'à 120 jours. Cependant, sur certains jambons salés sans salpêtre, on a observé une augmentation de *L.m.* L'observation des résultats physico-chimiques indique que *L.m.* croit sur les échantillons dont la teneur en humidité est la plus élevée (59,8 % vs 57,1 %). Ces produits ont également une activité de l'eau (Aw) supérieure aux autres jambons (0,930 vs 0,905). Une étude menée précédemment par la station expérimentale Pyragena a montré que pour des teneurs en humidité supérieures à 59 %, la croissance de *L.m.* sur des jambons salés avec salpêtre est également possible.

**Tableau 1** : Dénombrement de Listeria (exprimé en ufc) jusqu'à DLC sur des jambons secs en fonction de la teneur en humidité des produits.

		J0	J30	J60	J90	J120
Teneur en	> 59 %	355	8740	1448	1508	1948
Humidité	<b>55-57</b> %	213	26	9	8	8

L'étude du comportement de L.m. en fonction du mode de conditionnement des jambons (sous vide ou sous atmosphère protectrice) montre que le comportement de L.m. est le même quel que soit le type de conditionnement. La diminution de L.m. est significative dès J30 et se poursuit jusqu'à 120 jours pour les échantillons dont la teneur en humidité est inférieure à 57 %.

L'étude du comportement de *Listeria monocytogenes* soumis ou non à une rupture de la chaîne du froid montre que *L.m.* croit sur les jambons les plus humides (teneur en humidité supérieure à 59 %).

**Tableau 2**: Dénombrement de Listeria (exprimé en ufc) jusqu'à DLC sur des jambons secs qui ont subi ou non une rupture de la chaîne du froid, en fonction de leur teneur en humidité.

		J0	J30	J60	J90	J120
Humidité > 59 %, Aw = 0,930	sans rupture de la chaîne du froid	370	6000	3300	980	1900
Humidité > 59 %, Aw = 0,930	avec rupture de la chaîne du froid	340	10000	5000	4700	5800
Humidité < 57 %, Aw < 0,930	sans rupture de la chaîne du froid	260	5	10	5	5
Humidité < 57 %, Aw < 0,930	avec rupture de la chaîne du froid	80	5	10	5	5

#### Conclusion

Dans les conditions actuelles de production industrielle, une contamination des jambons secs, dont la durée de fabrication est au minimum de 9 mois, à un taux d'emblée supérieur à 100 ufc par gramme est hautement improbable. Les tests de croissance constituent un des outils permettant de s'assurer de la fiabilité des produits jusqu'à leur DLC au regard du risque lié à *L.m.* Le process de fabrication des jambons secs est connu pour son effet assainissant des produits (diminution de l'humidité et de l'activité de l'eau) mais il semblait intéressant de connaître le développement de *Listeria monocytogenes* dans certaines conditions de fabrication. Les résultats de l'étude menée ici montrent comme on pouvait s'y attendre que c'est avant tout le degré de sèche du produit qui est important vis à vis du risque *Listeria monocytogenes*. Ce qui a été quantifié, au cours de cette étude, sur des jambons secs ayant subi une durée d'affinage longue, comme cela est le cas pour le jambon de Bayonne, demande à être étudié sur des jambons crus qui ont des durées de sèche plus courtes donnant des produits avec des teneurs en humidité et des Aw plus élevées.

#### Remerciements

Cette étude a été réalisée avec le soutien financier du Conseil régional d'Aquitaine.

# UNE EXPERTISE AU SERVICE DES ENTREPRISES ET DES POUVOIRS PUBLICS :

# RMT 07.01 EXPERTISE POUR LA DETERMINATION MICROBIOLOGIQUE DE LA DUREE DE VIE DES ALIMENTS

STAHL V.<sup>1</sup>, DENIS C.<sup>2</sup>, AUGUSTIN J.C.<sup>3</sup>, BEAUFORT A<sup>4</sup>, BOUBETRA A.<sup>5</sup>, CERANI B.<sup>6</sup>, CHRISTIEANS S.<sup>7</sup>, CORNU M.<sup>4</sup>, COUVERT O<sup>8</sup>, GARRY P.<sup>9</sup>, GIULIANI L.<sup>10</sup>, GUYONNET J.P.<sup>11</sup>, JAMET E. <sup>12</sup>, MAJOU D. <sup>13</sup>, MARIANI C. <sup>12</sup>, PINON A. <sup>14</sup>, PEYRAT M.B. <sup>10</sup>, REYNAL K. <sup>12</sup>, SERVAIS J.P. <sup>15</sup>, THUAULT D. <sup>8</sup>, ZULIANI V. <sup>9</sup>

Aérial Parc d'Innovation Rue Laurent Fries BP 40443 F 67412 Illkirch Cédex
 <sup>2</sup> ADRIA NORMANDIE Bd 13 juin 1944 F 14 310 Villers Bocage
 <sup>3</sup> ENV 7 avenue du Général de Gaulle F 94704 Maisons - Alfort Cédex
 <sup>4</sup> AFSSA 23, avenue du Général De Gaulle F 94706 Maisons - Alfort Cédex
 <sup>5</sup> SSHA-ISHA rue du Chemin Blanc – Champlan F 91165 Longjumeau
 <sup>6</sup> Lycée agricole Louis MAILLET BP 92 F 15104 Saint Flour
 ADIV 10, rue Jacqueline-Auriol ZAC du parc industriel des Gavranches F 63039 Clermont-Ferrand ADRIA Développement Z.A De Creac'h Gwen F 29196 Quimper
 <sup>9</sup> IFIP - Institut du porc 7 avenue du Général de Gaulle F 94704 Maisons-Alfort
 <sup>10</sup> DGAL Ministère de l'Agriculture et de la Pêche 251, rue de Vaugirard F 75 732 Paris
 <sup>11</sup> ARILAIT – CNIEL 42, rue de Châteaudun, F 75314 Paris cédex 09
 ACTILAIT Technopole ALIMENTEC, Rue Henri de Boissieu F 01060 Bourg en Bresse
 <sup>13</sup> ACTIA 16, rue Claude Bernard – F 75231 Paris Cédex 05
 Institut Pasteur de Lille 1 rue du professeur Calmette F BP 245 F 59019 Lille Cédex
 <sup>15</sup> EPLEFPA - ENIL Saint Lô Hall technologique 383, rue Popielujko F 50000 Saint Lô

#### Contexte

La réglementation européenne (règlement (CE) n°178/2002 du Parlement Européen et du Conseil du 28 janvier 2002 établissant les principes généraux de la législation alimentaire) stipule clairement l'objectif d'un niveau élevé de protection de la santé humaine et de la santé animale. Le règlement (CE) 2073/2005 modifié indique à l'article 3 : « les critères de sécurité microbiologique définissent l'acceptabilité d'un produit ou d'un lot de denrées alimentaires, applicables aux produits mis sur le marché pendant toute la durée de conservation des produits et dans des conditions de distribution, d'entreposage et d'utilisation raisonnablement prévisibles". Du point de vue microbiologique, de nouveaux critères sont en place et les problématiques sont différentes selon les espèces bactériennes. L'annexe II du règlement (CE) 2073/2005 recommande aux entreprises les études à conduire, afin de vérifier si les critères microbiologiques sont respectés pendant toute la durée de conservation. Ces études sont notamment applicables à Listeria monocytogenes. En effet pour Listeria monocytogenes, les aliments prêts à être consommés sont à classer selon leur potentialité à permettre le développement ou non de la bactérie pathogène ; pour les denrées permettant le développement potentiel de Listeria monocytogenes, le taux de 100 UFC/g est le seuil à ne pas dépasser pour le produit mis sur le marché pendant toute la durée de conservation. Sa présence est tolérée sur la justification scientifique du respect du critère. Cette justification repose sur l'utilisation de différents outils. L'industrie alimentaire a besoin de données fiables et d'outils d'aide à la décision, pour s'assurer de la qualité microbiologique des produits depuis la mise sur le marché jusqu'à la consommation. La détermination des caractéristiques physico-chimiques du produit alimentaire, le test de vieillissement, le test de croissance, le challenge test procédé et la microbiologie prévisionnelle font partie des outils d'aide à l'évaluation de la durée de vie microbiologique d'un produit alimentaire. Ces outils sont cités dans l'annexe II du règlement (CE) 2073/2005. Cependant l'annexe ne décrit pas la méthodologie à appliquer.

# Réseau Mixte Technologique (RMT) 07.01 « Expertise pour la détermination microbiologique de la durée de vie des aliments »

Les réseaux mixtes technologiques (RMT) sont une nouvelle modalité de partenariat scientifique et technique introduite par la loi d'orientation agricole n°2006-11 du 5 janvier 2006 mise en place et soutenue par le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche. Ces partenariats visent à développer des relations de travail approfondies entre acteurs de la recherche, de la formation et du développement, en cohérence avec les contrats d'objectifs du réseau des chambres d'agriculture, du réseau des instituts techniques agricoles (ITA) et du réseau des instituts techniques agro-industriels (ITAI). Les réflexions relatives à l'évolution des outils d'aide à l'expertise pour l'estimation de la durée de vie microbiologique des aliments et leur articulation pertinente s'inscrivent dans les travaux menés par le Réseau Mixte Technologique « Expertise pour la détermination microbiologique de la durée de vie des aliments » labellisé en août 2007 par le Ministère de l'Agriculture. Ce RMT, affilié au réseau de développement de l'Association de Coordination Technique pour l'Industrie Agroalimentaire (ACTIA), a comme organisme porteur Aérial. Il comprend 15 partenaires dont des centres ITAI et Centres Techniques¹, deux établissements d'enseignement technique agricole² ainsi que l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) et l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (ENVA). En outre, la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL), Arilait - CNIEL, l'ACTIA participent activement au comité de pilotage de ce réseau.

#### Objectifs et travaux

Cet ensemble d'acteurs du développement et du transfert, de la recherche et de l'enseignement constitue un réseau dédié à la détermination de la durée de vie microbiologique. La mise en commun de leurs compétences, ainsi que de leurs laboratoires et plateformes d'essais, permet d'apporter aux entreprises, ainsi qu'aux pouvoirs publics, des expertises en innovation et en qualité-sécurité microbiologique des aliments. Le RMT réalise des travaux méthodologiques, des essais inter laboratoires sur les différents outils d'aide à la détermination de la durée de vie microbiologique des aliments et a une implication dans le domaine de la reconnaissance de ces outils au niveau national et au niveau européen (AFNOR, Laboratoire Communautaire de Référence *Listeria monocytogenes*, Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Direction Générale de l'Alimentation, DG SANCO – Direction Générale Santé et Protection du consommateur). Le RMT est également un lieu de synergie et d'échange destiné à vulgariser, communiquer et diffuser les avancées techniques afin qu'elles puissent être utilisables et utilisées rapidement et au mieux par tous les acteurs.

\_

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> ADRIA Développement, ADRIA NORMANDIE, Aérial, Institut Pasteur de Lille, IFIP-institut du porc, ACTILAIT, ADIV, SSHA-ISHA

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Lycée agricole Louis MALLET Saint Flour, Ecole Nationale d'Industrie Laitière (ENIL) Saint Lô Thère

# MISE EN EVIDENCE D'ACTIVITES ANTI-*LISTERIA* et ANTI-*E.COLI* DE BACTERIES LACTIQUES POUR LA BIOPRESERVATION DE VIANDE

# YAAKOUBI K.<sup>1</sup>, BENKERROUM N.<sup>2</sup>& CHEVALLIER I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UR Typicité des Produits Alimentaires, ENITA-Clermont, Site de Marmilhat, 63370, Lempdes.

<sup>2</sup>Département des Sciences Alimentaires et Nutritionnelles, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II B.P. 6202, 10101-Instituts, Rabat, MAROC

#### Introduction

Les bactéries lactiques (LAB) sont utilisés pour la conservation des aliments. Elles agissent par l'intermédiaire de certains de leurs produits de métabolisme, capables d'inhiber le développement de flores bactériennes d'altération et/ou pathogènes. Certaines LAB sont par ailleurs susceptibles, si les conditions de développement sont favorables, de synthétiser des bactériocines. Ces molécules, de structure peptidique, peuvent avoir une action antibactérienne spécifique vis-à-vis de tel genre ou de telle espèce.

#### Matériel et Méthodes

Un total de 320 LAB (*Lactobacillus sakei*, *Enterococcus faecium*, *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus lactis*, *Vagococcus carniphilus* et *Enterococcus sp.*) isolées d'ateliers traditionnels de transformation de produits carnés en France ou au Maroc, ont été criblées pour leurs activités antagonistes envers d'autres LAB ou des bactéries pathogènes ou d'altération provenant du même atelier ou d'une banque de référence.

194 souches ont montré une activité inhibitrice contre *Listeria innocua*, et/ou *E.coli*. Après les tests de sensibilité aux protéases et à la chaleur, seulement 43 souches ont montré que la nature de l'inhibition était d'origine peptidique envers *Listeria innocua*, et 5 souches envers *E.coli*.

Huit souches efficaces envers *Listeria monocytogenes* et cinq souches envers *E.coli* ont été conservés pour étudier la cinétique et les conditions de production des substances anti-microbiennes.

Quatre bactéries lactiques choisies parmi les LAB qui ont démontré une inhibition vis-à-vis de *Listeria monocytogenes* ou *E.coli*, en condition in vitro : 1 *vagococcus carniphilus, 1 Lb sakei,* 1 *Lc.lactis,* 1 *Ec.* ont été conservées pour réaliser des essais de biopréservtion in situ selon la technique des challenge-tests . Les essais ont été réalisés sur de la viande de boeuf fraîche, mainenue entre 0 et 4°C et hachée préalablement à l'ensemencement artificiel par la bactérie possédant une activité antimicrobienne (10<sup>4</sup> ou 10<sup>6</sup> UFC/g) et/ou *L.monocytogenes* ou *E.coli.* (100UFC/g). Chaque expérience a été réalisées 3 fois. Les dénombrements ont été réalisés après ensemencement sur des géloses sélectives (MRS, TBX et ALOA)

#### Résultats et discussion

L'étude des cinétiques de production des substances produites par les souches tests répondent aux définitions des bactériocines. Les quantités produites par ces souches, ainsi que leur activité et leur stabilité sont influencées par les conditions de culture telles que le pH et la température du milieu et /ou la durée du stockage.

Des premiers essais de biopréservation ont été réalisés *in situ* sur de la viande boeuf hachée avec ensemencement simultané de *Listeria monocytogenes* ou *E.coli* et des souches possédant des activités microbiennes. Les mesures ont été effectués après différents temps de conservation sous vide à 8°C: 7, 14 et 21 jours. Les résultats montrent une bonne activité inhibitrice envers les 2 souches indicatrices (cf. Figure)

### Conclusion

La poursuite de la caractérisation de ces bactériocines donnera des pistes pour savoir sur quels paramètres physico-chimiques il est envisageable d'intervenir pour obtenir la production de ces peptides et s'orienter vers la sélection des souches possédant un ensemble de propriétés intéressantes par rapport aux autres espèces, pathogènes ou d'altération. Leur utilisation dans une stratégie de bio-préservation des produits carnés traditionnels tout en préservant leurs typicité est un objectif final.

# INDEX DES AUTEURS

Abouelkaram, S	Daudin, JD 71, 73
Agabriel, J	Davenel, A
Aldebert, L	De Broucker, T
Allais, S	De Lamballerie, M
André, B	Deiss, V
Astruc, T	Delavaud, A
Augustin, J.C	Delavigne, AE
Avezard, C	Delignette Muller, M.L
Baéza, É	Denis, C
Barboiron, C	Denis, M
Barthélémy, S	Denoyelle, C
Basly, S	Desmonts, M.H
Bauchart, D	Djelveh, G
Bechet, D	Dorchie, G
Benkerroum, N	Dourmad, JY
Berdagué, JL	Dronne, Y
Bernard, C	Duclos, M.J
Bernardi, T	Dufey, PA
Berri, C	Dufour, E
Beuvier, E	Dumont, R
Blochet, JE	Duplantier, I
Boichard, D	Durand, D
Boissy, A	Durand, Y
Bonhomme, N	Dutertre, C
Bonneau, M	Eadmusik, S
Bonnet, M	El Rammouz, R
Bordeau, T	Elaffifi, M
Boubellouta, T	Engel, E
Bouderoua, K	Fernandez, X
Bouix, J	Figwer, P
Boulard, J	Fillaut, M
Bourguet, C	Forslund, A
Bouyssière, M	Fosse, J
Brun, JP	Franck, M
Bugeon, J	Fravalo, P
Cartier, P	Ganet, S
Cassar-Malek, I	Garcia, F
Caterson, B	Gariepy, C
Chacornac, JP	Garry, P
Chambon, C	Gasc, G
Chavant, P	Gaselier, P
	Gaudron, Y
Challe I 121	Gautier, JM
Chelh, I.       121         Chemaly, M.       197	Gattler, 5W. 211 Gentès, G
V .	
Cherellian I 242	Gigaud, V
Chevallier, I	Gilain-Galliot, C
Childiard, Y	Glenisson, J
Christieans, S	Gobert, M
Combony N 65	Grève, E
Combeaux, N	Gros, JB
Contreras, J	Guesdon, J.C
Cormier, D	Guillemin, N
Correa, C	Guillevic, M
Cos, I	Guyon, C
Coton, JP	Haffray, P
Coutant, L	Hatey, F
Couvert, O	Hennequet, C

Hocquette, JF 101, 121, 127, 153, 155, 171, 189	Parmentier, S
Houix, Y 97	Peyrin, F
Huneau, A	Peyron, A
Jailler, R	Picard, B. 101, 119, 121, 125, 127, 153, 163, 179, 181,
Jamet, E	187, 193
Jean Dit Gauthier, E	Picgirard, L
Jlali, M	Pinon, A
Jouffe, L	Pochet, S
Journaux, L	Poignet, B
Jurie, C	Portanguen, S
Keddam, R	Pottinger, T
Kohli, N	Prunier, A
Kondjoyan, A	Ratel, J
Kondjoyan, N	Remignon, H
Kouba, M	Rémond, D
Laroche, M	Renand, G
Larzul, C	Renerre, M
Laville, E	Rieu, M
Le Bihan-Duval, E	Rivollier, M
Le Bouquin, S	Robert, N
Le Minous, AE	Robin, G
Le Roux, A	Robinault, C
Le Roy, P	Rossero, A
• .	
Lebert, A	Rousset, S
,	
Lebigre, M	Saez, G
Lebret, B	Sahar, A
Lefèvre, F	Salvat, G
Lepetit, J	Sancristobal, M
Leroy, S	Santé-Lhoutellier, V
Lethias, C	Savary-Auzeloux, I
Létisse, F	Sayd, T
Levert, F	Schreurs, N
Levéziel, H	Sellier, N
Lhommau, T	Selmane, D
Liaubet, L	Selselet-Attou, G
Ligout, S	Sibut, V
Listrat, A	Sifre, L
Lobjois, V	Simonin, H
Magdelaine, P	Sirami, J
Magras, C	Stahl, V
Mainsant, P	Talon, R
Mairesse, G	Terlouw, C
Métayer Coustard, S	Tesseraud, S
Meunier, B	Théau-Audin, S
Meurice, P	Théron, L
Michel, V	Thevenot, D
Micol, D	Thuault, D
Minassian, L	Tournayre, P
Minvielle, B 97, 229, 231, 233	Tourret, M
Miszczycha, S	Vallée, A
Moëvi, I	Vautier, A
Molette, C	Vernozy-Rozand, C
Montet, MP	Vial, C
Mourot, J 57, 69, 75, 79, 83, 87, 89	Vialter, S
Ngo, H.P	Wadih-Moussa, Z
Nute, G	Yaakoubi, K
Oudot, N	Yoon, K
Oury, MP	Zuliani, V
Parafita, E 59, 91	