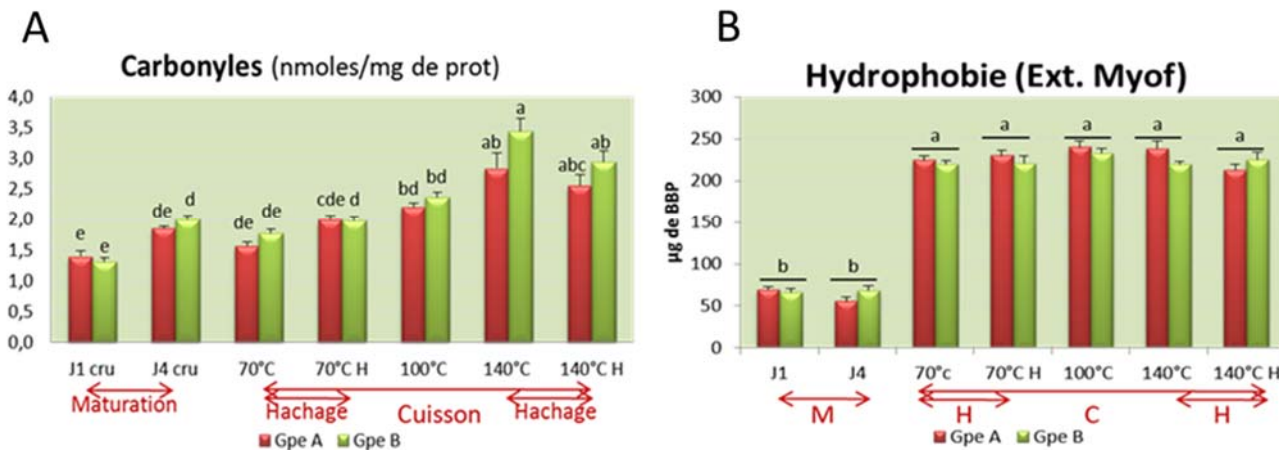


former des bases de Schiff ou bien deviennent volatils et ne peuvent être détectés avec la méthode utilisée. Ces bases de Schiff constituent une première étape dans l'agrégation à l'échelle moléculaire et de nouvelles interactions moléculaires.

En résumé, le potentiel nutritionnel de la matrice viande est directement impacté par les changements structuraux, eux-mêmes induits par les traitements technologiques.

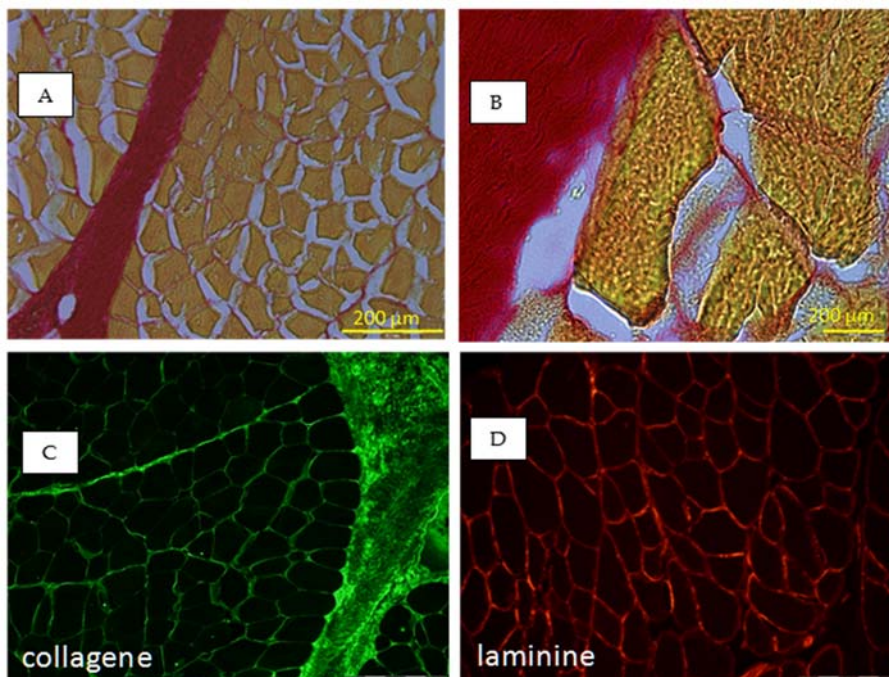
Figure 4 : A - Oxydation des acides aminés basiques (lysine, arginine et histidine) exprimée en nmoles de carbonyles par mg de protéines – B - mesure de l'hydrophobie de surface des protéines exprimée en µg de bleu de bromophénol (BBP) lié aux protéines myofibrillaires



A l'échelle tissulaire, on observe que la cuisson provoque une importante contraction latérale des cellules (correspondant à une réduction du diamètre des fibres) plus marquée à 60°C qu'à 90°C. La méthodologie appliquée (chauffage sur coupe de tissu) ici ne permet pas d'étudier de hautes températures. Cependant, dès 60°C, la rétractation des cellules est aisément observable (Figures 5A et 5B). Par ailleurs, les résultats montrent que le chauffage modifie la structure du tissu conjonctif, mais ce dernier reste en place et conserve partiellement son antigénicité comme le prouvent les immunomarquages du collagène (coloration verte) et de la laminine (coloration rouge) encore visibles (Figure 5C et 5D). La laminine est une protéine située sur la lame basale des cellules musculaires. Un immunomarquage de la laminine

permet de bien visualiser la délimitation des cellules. Cependant, il faut noter que le temps de mesure (correspondant au temps d'exposition des coupes cellulaires) a été quadruplé pour que le niveau de fluorescence du collagène et de la laminine soit équivalent à celui de la viande crue (témoin). Cela nous renseigne sur la perte d'antigénicité des protéines étudiées due au chauffage, perte cependant difficile à quantifier. Cette perte d'antigénicité peut être la résultante de la contraction du collagène au chauffage et de sa gélatinisation partielle. En effet, la gélatinisation du collagène s'accompagne d'une modification des hélices des chaînes alpha et la formation de boucles. Plus les chaînes alpha sont courtes, plus les repliements et la formation de boucles seront importants.

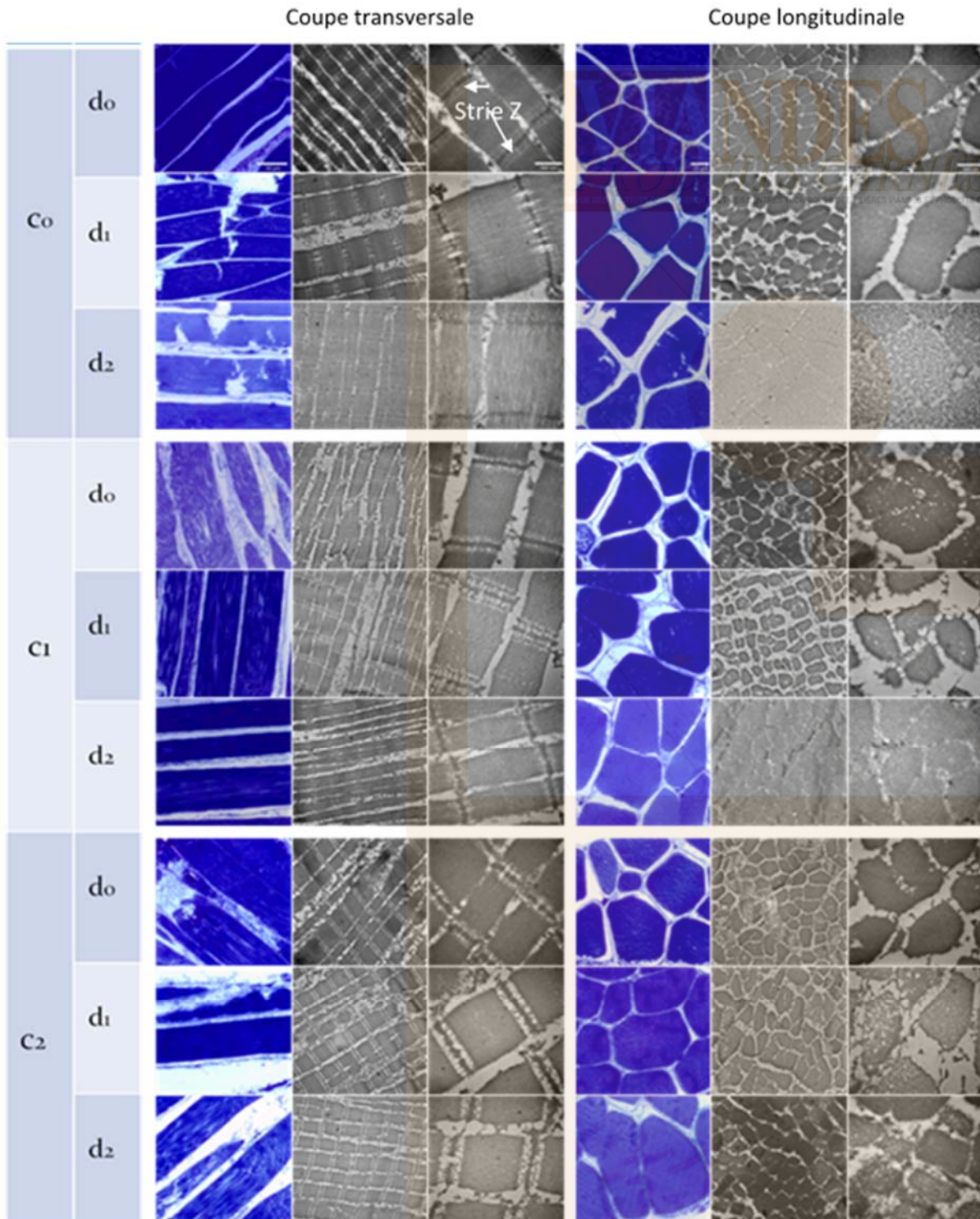
Figure 5 : Effet du chauffage sur l'évolution du tissu conjonctif (60°C) : coloration du collagène en rouge (A et B) ; détection du collagène par immunofluorescence (C) et de la laminine par immunofluorescence (D)



A l'échelle ultrastructurale, après une cuisson à 60°C, les myofibrilles apparaissent plus claires que dans la viande crue (Figure 6). Une ondulation des myofibrilles, probablement consécutive à la contraction du collagène dans l'espace extracellulaire, est alors mise en évidence. L'espace extramyofibrillaire semble augmenter après traitement

thermique. Les coupes longitudinales permettent de repérer aisément les stries Z et les sarcomères, repères toujours visibles après chauffage. Cependant, les myofilaments ne sont plus distingués, vraisemblablement en raison de la coagulation des protéines myofibrillaires (Figure 6).

Figure 6 : Coupes transversales et longitudinales de viandes crues (C0), chauffée à 60°C (C1) et 90°C (C2). d0 : échantillon non digéré, d1 : échantillon digéré à la pepsine, d2 : échantillon digéré à la pepsine + trypsine/chymotrypsine



Après chauffage, on note l'apparition de déstructuration sous la forme de microbulles au niveau de la bande I à proximité de strie Z. L' α -actinine, principal constituant de la strie Z est la plus labile et coagule à 50°C et la dénaturation

de la tropomyosine dans les filaments fins a lieu entre 35°C et 60°C. Les caractéristiques thermiques de ces protéines pourraient expliquer ces modifications morphologiques de la bande I. De plus, des micro-trous sont visibles dans la bande

A, en particulier, à proximité de ligne M. La MyBP-C (Myosin Binding Protéine C), qui est un composant de cette zone, semble être plus sensible à la cuisson que le reste de la bande A. La myosine, majoritaire dans la bande A, se dénature à partir de 55°C.

Les sections transversales mettent aussi en évidence des modifications ultrastructurales importantes au niveau des myofibrilles qui présentent des trous ou des zébrures blanches, ceci quelle que soit la température de chauffage. Enfin, le volume d'espace extramyofibrillaire est maximum pour une température de chauffage de 60°C, sans que l'on puisse expliquer ce résultat.

Pour une cuisson à 90°C, des cassures de grande taille sont observées sur les myofibrilles. L'aspect des membranes est préservé mais, comme lors de la cuisson à 60°C, la masse myofibrillaire s'est contractée, laissant apparaître des espaces subsarcolemmaux importants contenant de nombreux agrégats protéiques. La strie Z est épaisse et discontinue et la bande I est très affectée par le traitement. Ces structures semblent plus dégradées que dans le cas d'une cuisson à 60°C. Contrairement au témoin cru, les myofilaments sont

complètement coagulés et il est impossible de les distinguer. Ce résultat s'explique en partie par le fait que la myosine se dénature aux alentours de 55°C et l'actine, la troponine et la tropomyosine vers 80°C. La longueur des sarcomères diminue de 15,7 % après une cuisson à 90°C.

L'ensemble de ces données histologiques et immunohistologiques permet de visualiser les changements structuraux que subissent les matrices carnées et les protéines lors de la cuisson à l'échelle de la cellule musculaire. Ce sont des données importantes pour mieux comprendre les mécanismes à l'origine, par exemple, de la variation de la vitesse de digestion, et de la digestibilité des viandes après cuisson.

Il est apparu important de développer des approches de modélisation de ces phénomènes en raison de la multitude de conditions de process, de type de matrice, etc. Ces travaux de modélisation en cours, prennent en compte, outre les données de process et du type de matrice, celles de la physiologie de la digestion, à savoir le pH et l'activité des enzymes digestives.

IV. IMPACT DE LA CUISSON SUR LES PARAMETRES DE DIGESTION *IN VIVO* DES PROTEINES DE LA VIANDE

IV.1. Modèle mini porc

L'évaluation de la qualité d'une source de protéines est habituellement basée sur la composition en acides aminés (AA) et la digestibilité des protéines dans le tube digestif. On sait maintenant que ces critères ne suffisent pas à décrire pleinement le potentiel nutritionnel d'une protéine. Par exemple, il a été montré que la vitesse de digestion des protéines régule la rétention postprandiale des protéines alimentaires dans l'estomac (Dangin *et al.*, 2003). En outre, la digestibilité totale n'est pas un bon prédicteur de la biodisponibilité des acides aminés. Les mesures de digestibilité iléale vraie (TID pour « True Ileal Digestibility ») sont donc plus appropriées, mais elles sont difficiles à obtenir chez l'homme sain. Quelques mesures de TID ont été réalisées sur des protéines isolées, par la collecte du chyme iléal en utilisant une sonde naso-intestinale (Bos *et al.*, 2005 ; Mariotti *et al.*, 1999). Il existe très peu d'études sur la digestion *in vivo* des protéines carnées. Chez l'Homme, le coefficient d'utilisation digestive des protéines de la viande, mesuré sur l'ensemble du tractus digestif, est très élevé (97-100%, Young *et al.*, 1975, Wayler *et al.*, 1983). Des études chez le rat montrent que cette valeur n'est pas affectée par la teneur en collagène de la viande, bien que les protéines du tissu conjonctif soient plus résistantes à l'attaque des enzymes protéolytiques (Laser-Reutersward *et al.*, 1982). L'intérêt de ces mesures sur l'ensemble du tractus digestif est cependant limité. En effet, seules les protéines alimentaires digérées dans l'intestin grêle participent à la fourniture d'acides aminés pour l'organisme. De plus, ces mesures ne renseignent pas sur la quantité et la nature des protéines alimentaires entrant dans le côlon, celles-ci pouvant influencer la nature de la flore résidante et les produits terminaux des fermentations. La digestibilité dans l'intestin grêle des protéines de la viande a été rarement mesurée chez l'homme en raison des difficultés de prélèvement d'effluents iléaux suite à l'ingestion d'un aliment solide. L'unique étude dans le domaine, réalisée sur

des patients iléostomisés, montre que les mécanismes de la digestion dans l'intestin grêle sont très efficaces vis-à-vis des protéines carnées, et que leur digestibilité mesurée à la fin de l'intestin grêle est très élevée (0,94 ; Silvester et Cummings, 1995). Cependant, il n'existe pas de travaux permettant d'évaluer l'impact du type de viande ni des traitements technologiques sur ce paramètre. Les travaux visent à déterminer l'impact des traitements technologiques sur les paramètres de la digestion dans l'intestin grêle (vitesse et quantité absorbée), et sur la nature et la quantité des protéines résiduelles entrant dans le gros intestin.

Pour les mesures de digestion *in vivo* le mini porc est utilisé comme animal modèle. Bien que la digestibilité dans l'ensemble du tractus digestif soit légèrement plus élevée chez le porc que chez l'homme, l'importance de la digestion avant le gros intestin est équivalente (Rowan *et al.*, 1994). Les animaux sont équipés d'une canule au niveau de l'iléon terminal pour permettre le prélèvement des contenus digestifs à la fin de l'intestin grêle. Ils sont également équipés d'un cathéter vasculaire permanent (aorte abdominale) pour déterminer la cinétique d'apparition des acides aminés alimentaires dans le compartiment sanguin périphérique.

Pour permettre la différenciation entre les protéines alimentaires et les protéines endogènes dans les effluents iléaux, les viandes sont issues d'un bovin dont les protéines corporelles sont préalablement marquées avec de l'azote-15 (¹⁵N).

Cette approche a été testée en utilisant un veau perfusé par voie intraveineuse avec un cocktail d'acides aminés marqués contenant 99% de ¹⁵N. L'enrichissement en ¹⁵N obtenu dans les muscles au bout de 15 jours a été de 0.5%. Après abattage, la viande marquée a été cuite, hachée et distribuée à des miniporcs. Des prélèvements de contenus digestifs ont été réalisés en cinétique après l'ingestion du repas.

IV.2. Cinétique d'apparition des acides aminés au niveau plasmatique

L'effet de la température de cuisson sur la cinétique d'apparition des acides aminés indispensables (AAI) au niveau plasmatique est présenté dans la Figure 7. Le changement de concentration durant les 3 premières heures après l'ingestion du repas est principalement dû à l'absorption des acides aminés. Ainsi, la cinétique de la concentration plasmatique des acides aminés indispensables dans cet intervalle de temps est un bon indice de la vitesse de digestion. Aussi bien la forme de la courbe (Figure 7) et l'aire

sous la courbe indiquent une augmentation de la vitesse de digestion, lorsque la température de cuisson de la viande a augmenté de 60 à 75°C, et une diminution de la vitesse de digestion, lorsque la température a été augmentée de 75 à 95°C. Cependant, ni la concentration plasmatique maximale d'AAI, ni l'aire sous la courbe de l'ensemble de la période post-prandiale (6 h) n'ont été affectées par les températures de cuisson.

Figure 7 : Cinétique d'apparition des Acides Aminés Indispensables (AAI) dans le plasma en fonction de la température de cuisson

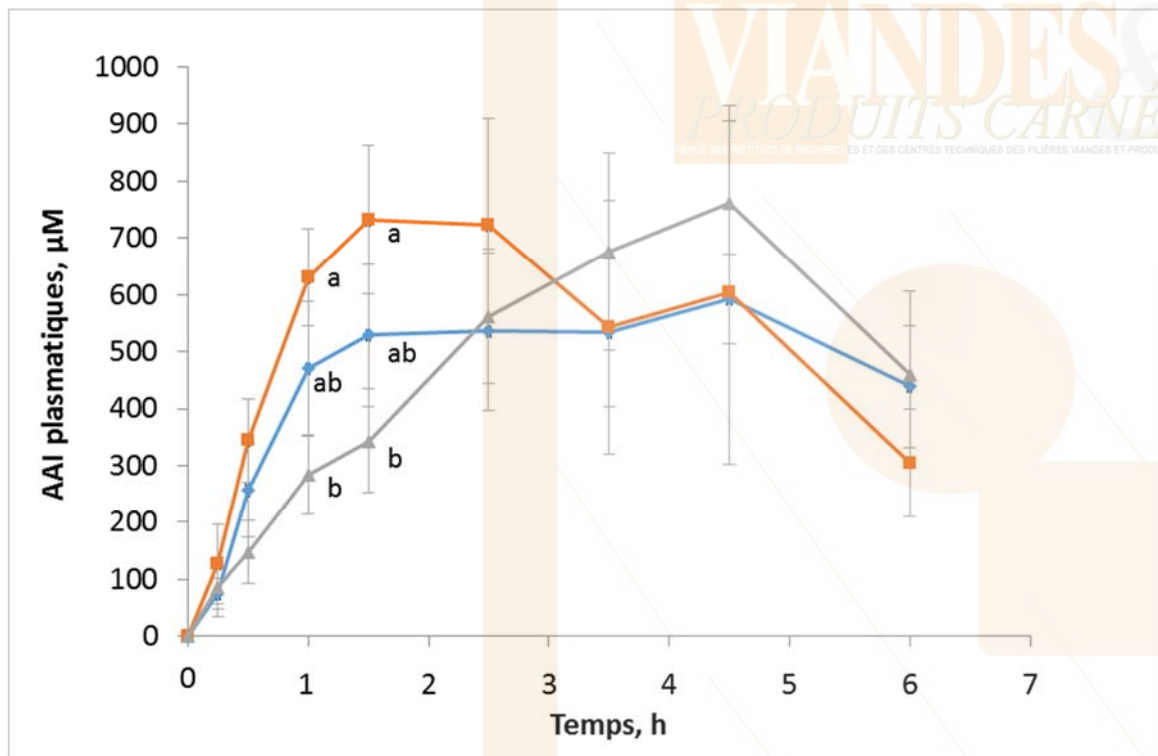
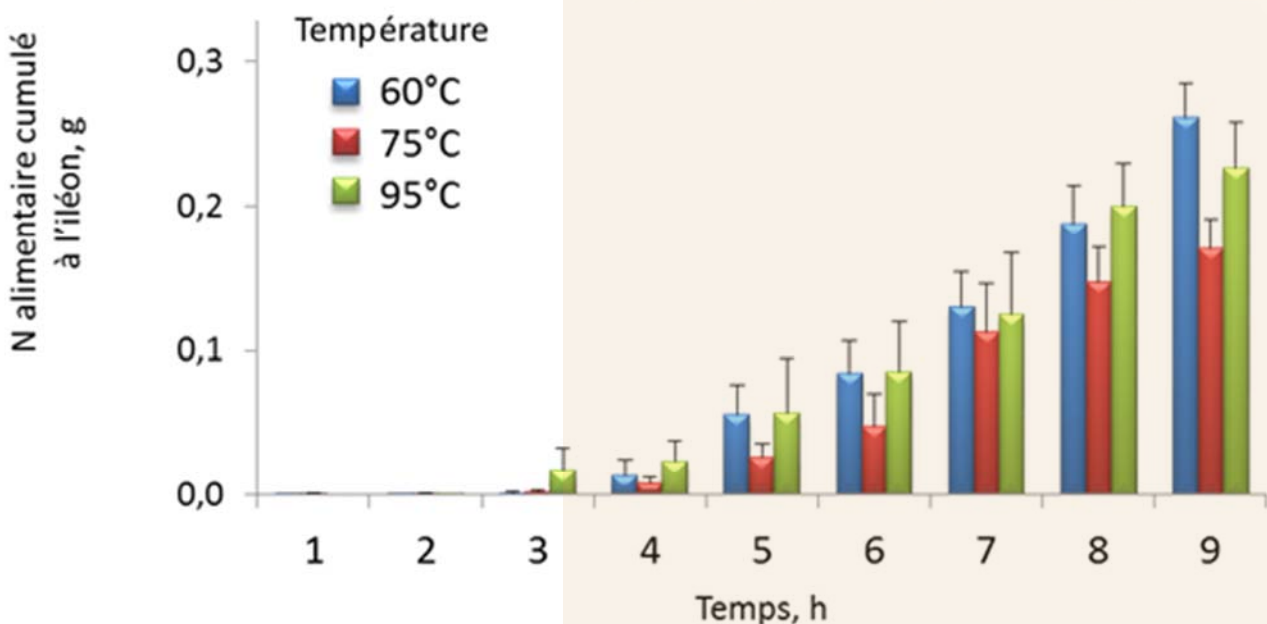


Figure 8 : Quantité cumulée d'azote d'origine alimentaire, mesurée dans l'iléon, en fonction de la température de cuisson de la viande ingérée



Une des originalités de notre étude est la production de viande dont les acides aminés ont été uniformément marqués à l'azote 15 pour permettre la distinction de l'aliment et la mesure de la digestibilité réelle dans l'intestin grêle. La vitesse d'apparition des acides aminés dans le sang, suite à l'ingestion des viandes, est supérieure pour une température de cuisson à cœur de 75°C, par rapport à des cuissons à 60 ou 95°C. En revanche, contrairement à ce qui était observé *in vitro*, nous avons montré que la température de cuisson n'affecte pas la quantité totale de protéines digérées dans l'intestin grêle (environ 95% des protéines ingérées) (Figure 8). *In vivo*, la capacité enzymatique et le temps de séjour dans l'intestin grêle sont donc toujours suffisants pour compenser

IV.3. Etude chez l'Homme

Les premiers travaux, réalisés avec 2 modalités de chauffage (55°C, 5 min et 90°C, 45 min), ont débuté. Les résultats disponibles à ce jour montrent, en termes de vitesse de digestion, un passage du repas plutôt plus rapide pour la cuisson à 55°C (les 4 premières heures), contre les 5-6 premières heures pour la cuisson à 90°C. Les mesures de digestibilité des protéines de viande ne sont pas concluantes par rapport à la littérature et nécessitent des corrections par ajout d'un marqueur de repas. En termes de métabolisme, il

CONCLUSION

Les approches *in vitro* ont révélé que la température de cuisson est l'un des principaux déterminants de la vitesse de digestion (Bax *et al.*, 2012). Par rapport à la viande crue, la vitesse de digestion augmente avec une température de cuisson proche de 70°C. Cet effet s'explique par une dénaturation progressive des protéines, qui expose les sites de clivage pour les enzymes digestives, alors qu'à des températures supérieures, des phénomènes d'oxydation conduisent à l'agrégation des protéines, masquant ainsi les sites de clivage. Bien qu'*in vivo* des facteurs de régulation (tels que les interactions avec les autres constituants alimentaires, les sécrétions enzymatiques, la vidange gastrique, etc.) soient susceptibles de contribuer à l'augmentation des concentrations plasmatiques d'acides aminés indispensables, les mêmes tendances que celles enregistrées *in vitro* ont été observées, à savoir une vitesse de digestion supérieure pour une température de cuisson autour de 70°C.

En conclusion, la digestibilité des protéines des viandes dans l'intestin grêle est élevée, et ce quelle que soit la

d'éventuelles différences de digestion dans l'estomac, et assurer ainsi une hydrolyse maximale des protéines de la viande avant le côlon. Ainsi, le degré de cuisson de la viande va essentiellement influencer sur l'efficacité de la digestion par la pepsine, conduisant à une sortie de l'estomac et une attaque des protéines par les enzymes pancréatiques plus ou moins rapides, conditionnant aussi la cinétique d'apparition des acides aminés dans le sang.

Dans cette étude, le rôle de la mastication a été volontairement éludé mais des études menées récemment ont montré que cette dernière avait une influence importante sur la digestion ; il serait donc intéressant d'intégrer cet aspect dans de futures expériences (Sayd *et al.*, 2016).

n'est pas observé de différences quant au transfert de l'azote alimentaire dans les pools d'acides aminés et protéines plasmatiques entre les deux cuissons. En termes de pertes métaboliques, il n'existe pas de différence concernant les pertes d'azote alimentaire dans l'urine. Par contre l'incorporation d'azote dans le pool d'urée corporelle semble plus rapide et plus importante pour la cuisson à 55°C. Les travaux étant en cours, il est prématuré d'établir une conclusion définitive concernant l'Homme.

température de cuisson et la quantité de viande consommée (données non montrées). De ce fait, les résidus de protéines de viande entrant dans le côlon seront relativement faibles. Cette étude montre que la vitesse de digestion des protéines, un paramètre d'intérêt accru pour la nutrition, peut être modulée par la cuisson de la viande : c'est pour une température de cuisson modérée que la digestion est la plus rapide. Avec des températures élevées, la vitesse de digestion est moindre, même si elle reste bonne. En termes d'implication nutritionnelle, les protéines dites rapides sont plus efficaces pour améliorer l'anabolisme protéique postprandial afin de lutter contre la sarcopénie chez les personnes âgées. Cette étude montre donc l'intérêt de jouer sur les températures de cuisson pour optimiser la vitesse de digestion des protéines de viande. Ces travaux ouvrent de nouvelles perspectives pour la conception d'aliments à destination des personnes âgées pour lesquelles la phase orale de mastication revêt une dimension essentielle (Peyron *et al.*, 2017).

Références :

- Aaslyng M.D., Bejerholm C., Ertbjerg P., Bertram H.C., Andersen H.J. (2003). Cooking loss and juiciness of pork in relation to raw meat quality and cooking procedure. *Food Quality and Preference*, 14, 277-288.
- Bax M.L., Aubry L., Ferreira C., Daudin J.D., Gatellier P., Rémond D., Santé-Lhoutellier V. (2012). Cooking temperature is a key determinant of *in vitro* meat protein digestion rate: investigation of underlying mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 2569-2576.
- Bax M.L., Sayd T., Aubry L., Ferreira C., Viala D., Chambon C., Rémond D., Santé-Lhoutellier V. (2013). Muscle composition slightly affects *in vitro* digestion of aged and cooked meat: Identification of associated proteomic markers. *Food Chemistry*, 136, 1249-1262.
- Bos C., Juillet B., Fouillet H., Turlan L., Daré S., Luengo C., N'tounda R., Benamouzig R., Gausserès N., Tomé D., Gaudichon C. (2005). Postprandial metabolic utilization of wheat protein in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 87-94.
- Dangin M., Guillet C., Garcia-Rodenas C., Gachon P., Bouteloup-Demange C., Reiffers-Magnani K., Fauquant J., Ballèvre O., Beaufrère B. (2003). The rate of protein digestion affects protein gain differently during aging in humans. *Journal of Physiology-London* 549, 635-644.

Laser-Reutersward A., Asp N.G., Bjorck I., Ruderus H. (1982). Effect of collagen content and heat treatment on protein digestibility and biological value of meat products. *International Journal of Food Science & Technology*, 17, 115-123.

Mariotti F., Mahé S., Benamouzig R., Luengo C., Daré S., Gaudichon C., Tomé D. (1999). Nutritional value of [¹⁵N]-soy protein isolate assessed from ileal digestibility and postprandial protein utilization in humans. *Journal of Nutrition*, 129, 1992-1997.

Oberli M, Marsset-Baglieri A, Airinei G, Santé-Lhoutellier V, Khodorova N, Rémond D, Foucault-Simonin A, Piedcoq J, Tomé D, Fromentin G, Benamouzig R, Gaudichon C. (2015). High true ileal digestibility but not postprandial utilization of nitrogen from bovine meat protein in humans is moderately decreased by high-temperature, long-duration cooking. *Journal of Nutrition*, 145, 2221-2228.

Peyron M.A., Sayd T., Santé-Lhoutellier V. (2017). Combining *in vitro* mastication and digestion: a new concept to investigate bioaccessibility in the elderly. 5th International conference on Food digestion, 4-6 April, Rennes, France.

Promeyrat A., Bax M.L., Traoré S., Aubry L., Santé-Lhoutellier V., Gatellier P. (2010). Changed dynamics in myofibrillar protein aggregation as a consequence of heating time and temperature. *Meat Science*, 85, 625-631.

Rowan A.M., Moughan P.J., Wilson M.N., Maher K., Tasman-Jones C. (1994). Comparison of the ileal and faecal digestibility of dietary amino acids in adult humans and evaluation of the pig as a model animal for digestion studies in man. *British Journal of Nutrition*, 71, 29-42.

Santé-Lhoutellier V., Astruc T., Marinova P., Grève E., Gatellier P. (2008). Effect of meat cooking on physicochemical state and *in vitro* digestibility of myofibrillar proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 1488-1494.

Silvester K.R., Cummings J.H. (1995). Does digestibility of meat protein help explain large-bowel cancer risk. *Nutrition and Cancer-An International Journal*, 24, 279-288.

Wayler A., Queiroz E., Scrimshaw N.S., Steinke F.H., Rand W.M., Young V.R. (1983). Nitrogen-balance studies in young men to assess the protein-quality of an isolated soy protein in relation to meat proteins. *Journal of Nutrition*, 113, 2485-2491.

Young V.R., Fajardo L., Murray E., Rand W.M., Scrimshaw N.S. (1975). Protein requirements of man - Comparative nitrogen-balance response within submaintenance to maintenance range of intakes of wheat and beef proteins. *Journal of Nutrition*, 105, 534-542.