

13 th EUROPEAN MEETING OF MEAT RESEARCH WORKERS
ROTTERDAM. 20 - 26th August 1967

NOTE SUR LES RELATIONS ENTRE LA DURETE DE LA VIANDE ET
LES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DU TISSU CONJONCTIF

R. BOCCARD, B.L. DUMONT, O. SCHMITT
Laboratoire de Recherches sur la Viande
Centre national de Recherches zootechniques
78- Jouy-en-Josas. France.

NOTE SUR LES RELATIONS ENTRE LA DURETE DE LA VIANDE
ET LES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DU TISSU CONJONCTIF

De longue date le tissu conjonctif a été reconnu comme un facteur important de la dureté de la viande. Dès 1907, LEHMAN s'est intéressé à la mesure de cette caractéristique et à ses rapports avec les tissus conjonctifs. Depuis, de nombreux travaux ont été consacrés au même problème. Ils ont permis d'établir avec certitude l'influence globale des tissus conjonctifs sur les variations de dureté de la viande, tous autres facteurs étant égaux (notamment la durée de conservation).

Cependant, le rôle précis des différents facteurs qui caractérisent les tissus conjonctifs (importance, répartition, degré de polymérisation du collagène, importance de l'élastine ...) n'est que partiellement élucidé. Il est inutile d'insister longuement sur l'intérêt que présenterait pour l'amélioration de la tendreté - par voie zootechnique ou post-mortem - la connaissance des influences respectives de ces différents facteurs.

La présente note rapporte les premiers éléments d'une étude générale conduite dans ce sens par notre laboratoire.

- - -

L'exploration des relations existant entre les caractéristiques de la trame des tissus conjonctifs et la dureté de la viande nécessite de pouvoir examiner un ensemble assez étendu de cette trame correspondant, au moins, à la taille des échantillons habituellement mastiqués et ceci, dans des muscles qui présentent entre eux de larges variations de tendreté et de structure.

A cette fin, nous avons été conduits :

- sur le plan du matériel animal, à considérer à côté de sujets normaux, des animaux présentant le caractère cul de poulain (encore appelé "culard" ou "mulot"). Celui-ci se manifeste non seulement par une hypertrophie de la musculature par rapport au squelette (DUMONT, BOCCARD, 1967), mais aussi par une perturbation de leur métabolisme du collagène (BOCCARD, 1964),
- sur le plan des techniques, nous avons élaboré une méthode d'étude histologique de la structure de la trame des tissus conjonctifs sur des coupes de grandes surfaces.

MATERIEL ET METHODES

Le tableau 1 indique les caractéristiques des animaux étudiés sur lesquels, après quatre jours de maturation à 4°C, ont été prélevés les cinq muscles suivants :

- . Psoas Major
- . Semi-Tendinosus
- . Longissimus Dorsi (Pars Lombaris)
- . Pectoralis Profundus
- . Tricipitis Brachii Laterale

Dans la partie centrale de ces muscles, cinq tranches successives de 1,5 cm d'épaisseur ont été prélevées afin d'étudier respectivement :

- l'aspect macroscopique de la texture apparente de la viande,
- la trame des tissus conjonctifs sur une coupe histologique de grande dimension (6 cm X 8 cm),
- la dureté à l'aide de l'appareil de WARNER BRATZLER sur tissu frais, en considérant 8 à 12 carottes de 1,25 cm de diamètre pour chaque muscle.
- la teneur en hydroxyproline des carottes utilisées pour les mesures de la dureté,
- la solubilité du collagène sur un échantillon frais prélevé au coeur des muscles puis broyé.

Schématiquement les méthodes utilisées étaient les suivantes:

METHODES HISTOLOGIQUES

Le tableau 2 résume les principales étapes de la préparation des échantillons.

Les coupes musculaires obtenues (dont la figure 1 donne un exemple obtenu par cette technique) furent photographiées et reproduites à l'échelle $\frac{3}{2}$. L'examen des photographies et la projection des coupes permirent à l'un de nous (O.S.), de juger les caractéristiques suivantes :

- 1) Importance totale du tissu conjonctif noté de 1 à 7 dans le sens croissant de sa présence,
- 2) Structuration des réseaux notée de 1 à 7 selon l'état de division de la trame,
- 3) Taille des faisceaux de fibres correspondant au grain de vaine notée de 1 à 5, dans le sens croissant.

METHODES CHIMIQUES

Les carottes immédiatement récupérées après la mesure de dureté furent pesées et hydrolysées dans 30 ml d'HCl 6 N sous reflux. Après concentration et neutralisation, l'hydroxyproline fût déterminée dans les hydrolysats par la méthode de BERGMAN et LOXLEY (1963) adaptée à l'autoanalyseur "Technicon".

La solubilité du collagène fut déterminée sur 3 échantillons de 4,5 g de broyat de chacun des muscles. L'échantillon enveloppé dans de la gaze fut plongé dans 45 ml de solution de Na Cl à 10%. La cuisson dura 6 heures à 90°C. L'hydroxyproline fut déterminée dans le bouillon et la résidu.

RESULTATS

1. ASPECT MACROSCOPIQUE ET STRUCTURE DE LA TRAME DE TISSU CONJONCTIF.

Sur le tissu frais observé à l'oeil nu lors de la section de la tranche, les faisceaux musculaires discernables dans ces conditions paraissent plus petits et plus cohérents dans le cas des animaux normaux.

Ces impressions méritent d'être confrontées avec les résultats de la notation des coupes histologiques des mêmes muscles qui, colorés spécifiquement pour mettre les tissus conjonctifs en évidence et examinés sous de faibles épaisseurs (15 μ) permettent une définition extrêmement fine du dessin de la trame dans le plan de section.

A ce niveau, la répartition des tissus conjonctifs est comparable à celle d'un réseau routier comprenant des voies de circulation de largeur variable allant de l'autoroute au sentier. Ce réseau peut se caractériser par sa densité par unité de surface, par son degré de division et par son homogénéité d'une région à une autre. D'où notre tentative de matérialiser l'aspect de la trame du tissu conjonctif par les caractéristiques suivantes :

- la surface totale du réseau correspondant à l'importance globale du tissu conjonctif,

- la répartition du réseau par la prise en considération :

- d'une part, du nombre des trames de différentes classes d'épaisseur (cf. fig. 2),
- et, d'autre part, par la densité des travées qui, finalement, constituent le quadrillage et, en particulier, la taille des faisceaux.

Parmi les faisceaux de différents ordres qui composent le muscle, nous ne considérons dans cette étude de la taille, que les faisceaux séparés par des travées de la plus grande classe d'épaisseur pour le muscle considéré.

Le tableau 3 indique les notations moyennes pour ces 3 caractères qui présentent des variations entre muscles et types d'animaux.

2. INDICE DE DURETE.

Les moyennes des mesures obtenues au Warner Bratzler pour chacun des muscles sont présentées au tableau 4.

L'analyse de variance nous a révélé une influence significative (au seuil 1%) du muscle et du type d'animal.

3. TENEUR EN HYDROXYPROLINE.

Dans le tableau 4 figurent également les teneurs moyennes en hydroxyproline en μg par g de matière sèche.

L'analyse de variance révèle également une influence significative (au seuil 1%) du type et du muscle sur la teneur en hydroxyproline.

4. SOLUBILITE DU COLLAGENE.

Le tableau 5 indique les valeurs moyennes de solubilité observées. On peut noter là encore une différence entre muscle et types d'animaux qui, d'après l'analyse de variance, est significative au seuil 1% (une influence des animaux, dans le type, a été observée comme significative au seuil 5%).

DISCUSSION

Notre objectif, dans cette note, n'étant pas la comparaison systématique entre les types d'animaux normaux et culs de poulain, nous nous limiterons simplement à souligner leur position particulière

pour tout ce qui concerne les caractères liés aux tissus conjonctifs, tant pour la dureté, que la teneur en hydroxyproline ou la solubilité du collagène.

Il est, par contre, plus intéressant de discuter les rapports entre les diverses caractéristiques observées objectivement ou subjectivement.

En premier lieu, il convient de noter la liaison existant entre les teneurs en hydroxyproline et les indices de dureté que traduisent les coefficients de corrélation calculés entre ces deux caractères pour l'ensemble de la population pour les différents types et à l'intérieur d'un même type, pour les différents animaux (tableau 6). Ceci est en accord avec de nombreux travaux, en particulier ceux de PARRISH et al., 1961 et de HILL, 1967.

Les valeurs des coefficients de corrélation sont relativement élevées, ce qui peut résulter du fait que les mesures des deux caractères ont porté sur les mêmes échantillons de tissus frais. En tout état de cause, l'importance de ces liaisons amène à accorder à la teneur en collagène une part importante de la variation de l'indice de dureté.

La liaison entre la solubilité moyenne des muscles et l'indice moyen du Warner Bratzler des mêmes muscles est illustrée dans la figure 3. L'indice du Warner Bratzler augmente au fur et à mesure que la solubilité décroît. Il reste à expliquer le rôle de cette variation dans le déterminisme de la dureté de la viande.

La variation de solubilité peut résulter d'un degré variable de polymérisation des collagènes selon les muscles ou les animaux. Les différences de polymérisation peuvent être elles-mêmes la conséquence d'activité mécanique ou d'état de maturité physiologique différent. Il pourrait exister entre muscles d'un même animal des différences analogues à celles que HILL (1965) a mises en évidence sur un même muscle tiré d'animaux d'âge différent.

La variation de solubilité peut être aussi liée à la teneur en collagène ou à sa répartition. De ce point de vue, la liaison entre le pourcentage de solubilité et la teneur en hydroxyproline est assez forte et inverse. La valeur du coefficient de corrélation r est de $-0,69$ pour l'ensemble des animaux ($n = 39$), $-0,62$ ($n=19$) pour les normaux et de $-0,76$ ($n = 20$) pour les culs de poulain.

En première analyse, cette propriété des collagènes est difficile à expliquer. Peut-être s'agit-il d'un phénomène secondaire qui résulte de deux phénomènes complémentaires: d'une part, plus il y a de collagène, plus son état de structuration est avancé et, d'autre part, un état de structuration avancé limite les possibilités de solubilisation.

Ces deux dernières hypothèses paraissent pouvoir être retenues à l'issue de l'examen des coupes histologiques. Plus le muscle possède d'hydroxyproline, plus la note de structuration est importante. Plus cette dernière est élevée, moins le pourcentage de solubilité est important (cf. fig. 4 et 5).

Cette importance de la structure de la trame des tissus conjonctifs se trouve également soulignée par les liaisons existant entre l'indice de Warner-Bratzler, d'une part, et les notes de structuration (fig. 6) et les notes de taille (fig. 7), d'autre part. L'augmentation de dureté paraît s'accroître dès que la structuration atteint un certain degré de complexité, dans un type de muscle donné.

Enfin, il faut signaler la tendance observée dans les rapports entre la note de taille et l'indice de dureté. Plus la note de taille est petite, plus l'indice de dureté est élevé. La valeur de cette liaison mériterait d'être précisée en mesurant objectivement la surface des faisceaux. Il est vraisemblable, en effet, que la note subjective de taille n'a pas la même signification pour les différents types de muscles considérés. Quoiqu'il en soit, dans le cas des muscles étudiés ici, cette relation inverse entre "taille" et indice de dureté pourrait résulter de la liaison de même nature constatée entre l'importance des tissus conjonctifs et la taille des faisceaux.

CONCLUSION

=====

L'importance totale du collagène se confirme être un facteur prépondérant de la dureté de la viande cure. Cependant, plus que ce caractère seul, l'organisation de la trame des tissus conjonctifs et, en particulier, sa structuration, devraient être considérées, d'après ces premiers résultats, comme les causes déterminantes du phénomène. En effet, elles conditionnent non seulement l'importance des tissus conjonctifs, mais elles leur imposent une dispersion hétérogène en liaison avec la dureté et la solubilité du collagène. Ceci souligne, dans l'étude de la dureté de la viande, l'intérêt des études histologiques portant sur les grandes surfaces musculaires.

- - - -

- Les auteurs remercient Madame CHEVALIER, Mesdemoiselles BARRAU et GIRARD et Messieurs ROY et TALMANT pour leur collaboration technique à la réalisation de cette étude, Monsieur GONDOUIN, pour son assistance dans le prélèvement des échantillons et Monsieur JAME, pour le choix des animaux.
- Les auteurs sont reconnaissants à Monsieur ARNOUX pour les conseils et l'aide qu'il leur a apportés dans les calculs statistiques.

R E S U M E

Les relations entre la dureté de la viande et les principales caractéristiques du tissu conjonctif ont été étudiées sur 5 muscles différents. Ceux-ci ont été prélevés après 4 jours de maturation sur des carcasses de 8 boeufs charollais de 3 ans dont 4 présentaient une hypertrophie musculaire.

Sur des préparations histologiques de grande surface (6 cm X 8 cm), ont été 3 aspects de la trame du tissu conjonctif : importance, structuration et taille des faisceaux (tableau 3).

Sur des échantillons de chaque muscle ont été mesurés à la fois la dureté par l'appareil de Warner Bratzler et la teneur en hydroxyproline (tableau 4) et sur des broyats frais des mêmes muscles, la solubilité du collagène (tableau 5).

Une forte liaison se manifeste entre la dureté et la teneur en hydroxyproline, d'une part (tableau 6) et avec la solubilité du collagène, d'autre part ($r = 0,69$). Ces relations sont discutées en fonction des caractères de la trame du conjonctif dont la structure plus que l'importance paraît être le facteur prépondérant.

S U M M A R Y

RELATIONSHIPS BETWEEN CHARACTERISTICS OF CONNECTIVE TISSUE
NETWORK AND THE TOUGHNESS OF MEAT

Five muscles from 8 three-year old steers (4 normal and 4 double muscled animals) were studied, after four days of ageing, to determine the relationships between toughness and the main characteristics of connective tissue.

Large-area histological sections (6 cm X 8 cm) were used to study, three features of the connective tissue network (amount, grading of connective tissue and size of bundles (table 3).

Warner Bratzler shear force and hydroxyproline content were determined on the same samples of each muscle (table 4).

Collagen solubility was also studied (table 5). High correlations were found between toughness and hydroxyproline content (table 6), and between toughness and solubility of collagene ($r = 0,69$). These results were discussed in connection with the traits of the connective tissue network. It appeared that to explain toughness variations, structure was more important than total amount of collagen.

- . - . - .

ZUSAMMENFASSUNG

BEZIEHUNGEN ZWISCHEN DEN EIGENSCHAFTEN DES BINDEGEWEBES-
NETZES UND DER HÄRTE DES FLEISCHES.

Als Versuchsmaterial dienten 8 Charollais-Bullen im Alter von 3 Jahren, von denen 4 eine Muskelhypertrophie zeigten. Bei 5 verschiedenen Muskeln wurden die Beziehungen zwischen der Härte des Fleisches und den wichtigsten Eigenschaften des Bindegewebes untersucht. Die Muskeln wurden nach 4-tägiger Reifung der Schlachtkörper entnommen.

Auf den grossflächigen histologischen Präparaten (6cm X 8 cm) wurden 3 Eigenschaften des Bindegewebnetzes mit Noten versehen: Menge, Aufbau und Grösse der Gewebsbündel (Tabelle 3).

In allen Muskelproben wurden gleichzeitig die Scherkraft nach Warner Bratzler und der Gehalt an Hydroxyprolin gemessen (Tabelle 4). Im Frischhomogenat derselben Muskeln bestimmten wir die Löslichkeit des Kollagens (Tabelle 5.).

Es besteht eine hohe Korrelation zwischen der Härte und dem Hydroxyprolinegehalt einerseits (Tabelle 6) und der Härte und der Löslichkeit des Kollagens andererseits ($r = - 0,69$). Diese Beziehungen werden im Zusammenhang mit den Eigenschaften des Bindegewebnetzes erörtert. Es zeigt sich, dass die Härte in stärkerem Masse durch den Aufbau als durch die Kollagenmenge beeinflusst wird.

- - - - -

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BERGMAN I., LOXLEY R., 1963. Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. *Anal. Chem.*, 35, 1961 - 1965;
- BOCCARD R., 1964. Relation entre l'hypertrophie musculaire des bovins culards et le métabolisme du collagène. *Ann. Zootech.*, 13. 389-391.
- DUMONT B.L., BOCCARD R., 1967. Le rapport muscle/os critère de sélection des bovins de boucherie. IIème Congrès Int. de Zootechnie, MILAN. 1967 (4 p.).
- HILL F., 1965 . The solubility of intra muscular collagen in meat animals of various age. XIth Eur. Meat Res. Work. BELGRADE, 1965, and *J. of Food Sci.*, 31, 161-166.
- HILL F., 1967. The chemical composition of muscles from steers which experienced compensatory growth. *J.Sci. Fd. Agric.*, 18, 164 - 166.
- LEHMANN K.B., 1907. Studien über die Zähigkeit des Fleisches und Ihre Ursachen. *Archiv. für Hyg.* 1907. 63, 134 - 179.
- PARRISH F.C., BAILEY M.E., HAUMANN M.D., 1961. Hydroxyproline as a measure of beef tenderness. *Food Techn.*, 16, 68 - 71 .

Tableau 1

CHARACTERISTIQUES DES ANIMAUX UTILISES

Race et age	Charollais de 3 ans environ							
Types	Culs de poulain				Normaux			
Numéros	C ₁	C ₃	C ₅	C ₇	N ₂	N ₄	N ₆	N ₈
Poids de carcasse (kg)	430,0	426,4	378,2	364,2	341,6	377,0	452,6	370,6
Longueur de carcasse (cm)	134,7	131,3	133,0	127,5	132,0	133,7	147,6	136,5
Epaisseur de cuisse (cm)	32,0	33,7	32,5	32,5	29,5	31,3	30,0	28,5

PRINCIPALES ETAPES DE LA PREPARATION DES ECHANTILLONS HISTOLOGIQUES

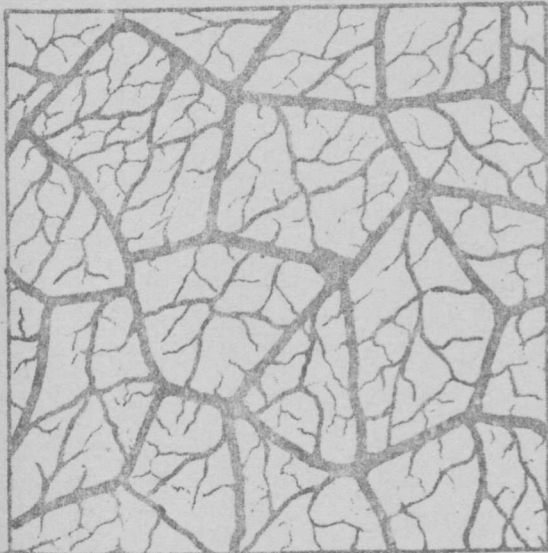
Opérations (")	Agents mis en oeuvre	Durée de l'opération
Congélation		-35° pendant 45 mn.
Fixation	1. mélange de Gilson sans sublimé.	1 h par mm d'épaisseur
	2. alcool 100°	3 bains de 20 mn
	3. glycérine 30°B	48 h
	4. alcool 100°	2 bains de 20 mn
	5. alcool butylique pur	2 bains de 20 mn
Inclusion	cyto-paraffine 54-56°	3 bains de 24 h
Coupe		
Coloration	hématoxyline - Dioxane	15 mn
Montage	Baume du Canada	
<p>(") Le détail des opérations pourra être demandé à O. SCHMITT, Laboratoire de Recherches sur la Viande de l'I.N.R.A., C.N.R.Z., 78-Jouy-en Josas. FRANCE.</p>		



Fig. 7

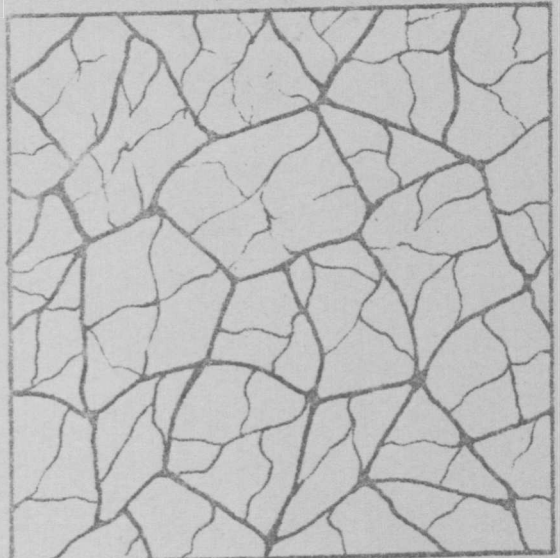
Fig. 2 - Exemples des différentes échelles de notation subjective des caractères de la trame du tissu conjonctif.

Importance 6

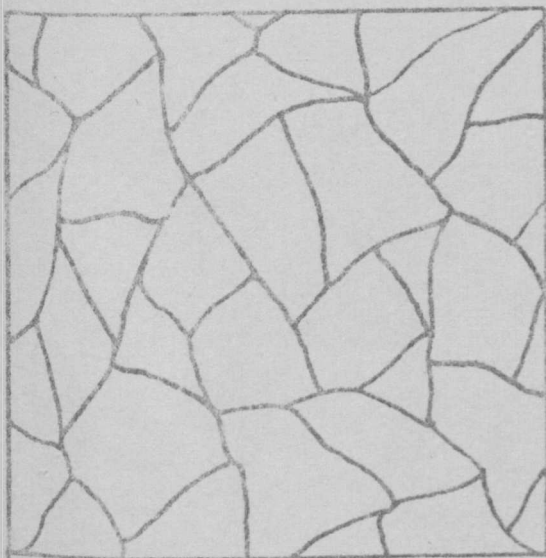


Structure 4

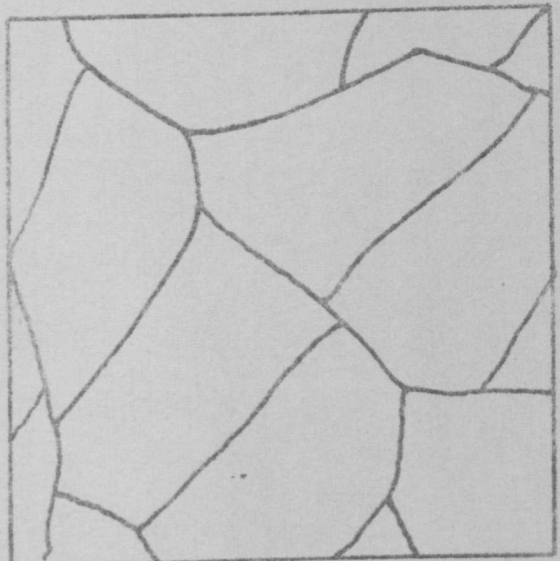
Importance 3



Structure 2



Taille 2



Taille 5

Tableau 3

NOTES MOYENNES DES CARACTERISTIQUES DE LA TRAME
DU TISSU CONJONCTIF

MUSCLES	Culs de Poulain				Normaux			
	N	importance	structuration	taille des faisceaux	N	importance	structuration	taille des faisceaux
Longissimus dorsi	4	1,75	2,50	4,00	4	2,75	3,00	3,00
Pectoralis profundus	4	4,00	3,50	3,00	4	5,25	4,25	1,25
Psoas major	3	1,00	2,00	3,33	4	1,75	2,75	4,25
Semi-tendinosus	4	4,00	3,50	2,25	4	5,50	3,50	1,00
Tricipitis brachii laterale	4	3,75	3,50	2,75	4	5,75	4,25	1,25

-17-

Tableau 4.

VALEUR DES INDICES DE DURETE (WARNER BRATZLER) ET DES
TENEURS EN HYDROXYPROLINE
(en μg par g de matière sèche)

Muscles		Culs de poulain			Normaux		
		N	\bar{x}	σ	N	\bar{x}	σ
Longissimus dorsi	W.B.	48	4,57	3,25	45	6,46	3,01
	HyPro		2294	1423		2669	979
Pectoralis profundus	W.B.	48	8,33	4,29	42	19,01	5,87
	HyPro		3426	1002		5645	1959
Psoas major	W.B.	48	3,18	1,93	45	5,73	2,88
	HyPro		1267	435		1925	717
Semi- tendinosus	W.B.	48	10,21	5,05	45	15,86	3,97
	HyPro		2883	1040		4825	1302
Tricipitis brachii laterale	W.B.	48	10,43	5,08	43	18,13	5,28
	HyPro		3981	1285		6140	1880

Tableau 5

SOLUBILITE MOYENNE DU COLLAGENE DES BROYATS
DE MUSCLE
(en pourcentage du collagène total)

Muscles	Culs de poulain	Normaux
Longissimus dorsi	22,43	19,78
Pectoralis . Produndus	16,55	13,78
Psoas major	22,93	21,58
Semi-tendinosus	17,20	15,98
Tricipitis brachii laterale	17,35	15,13

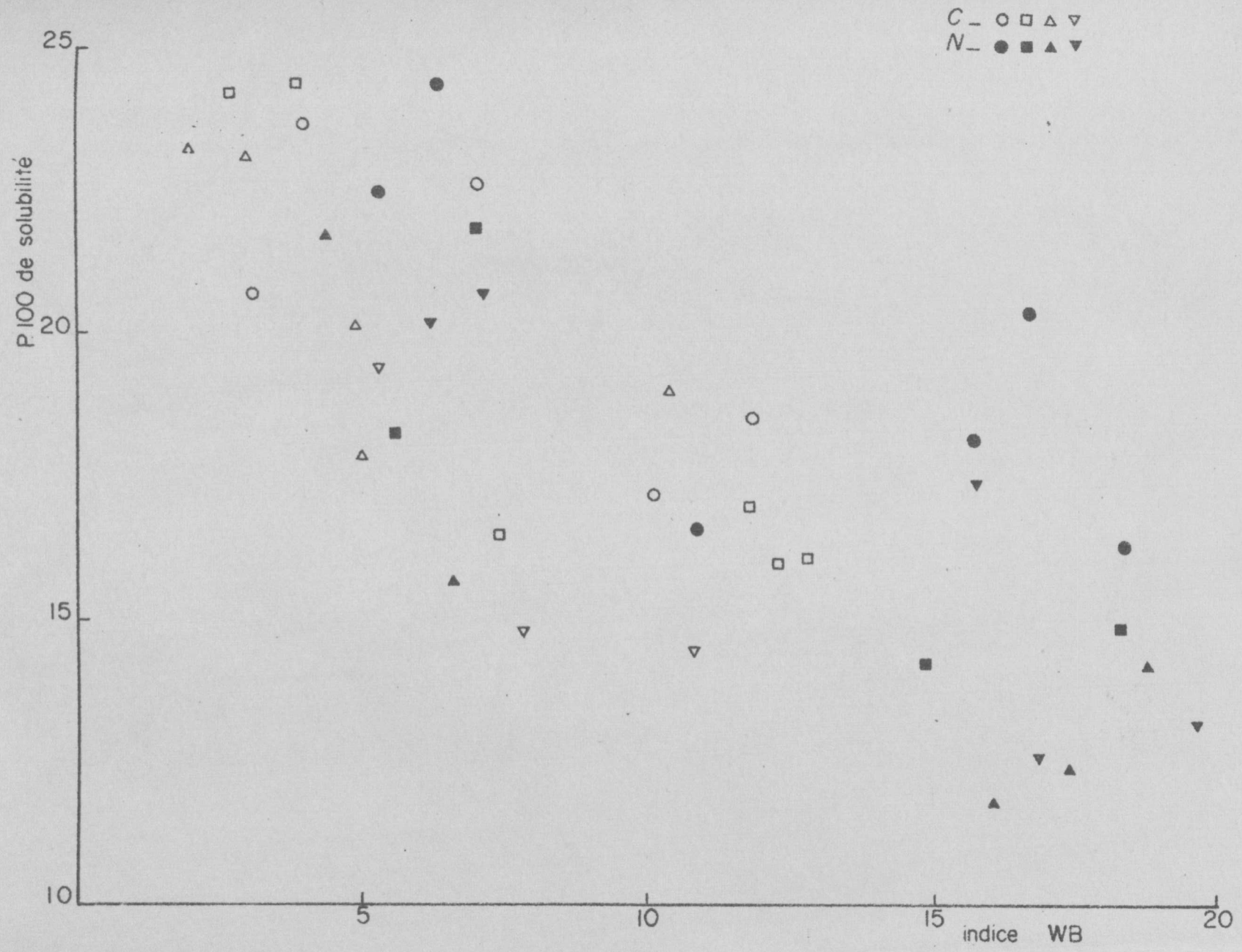
Tableau 6

VALEUR DES COEFFICIENTS DE CORRELATION
ENTRE LA TENEUR EN HYDROXYPROLINE (PAR
RAPPORT A LA M.S.) ET L'INDICE DE DURETE
(WARNER BRATZLER)

Population considérée		Nombre d'observations	Valeur du coefficient
Ensemble des données		462	+ 0,82
Animaux de type Culs de poulain		240	+ 0,75
Animaux normaux		222	+ 0,81
Individus Culs de Poulain	C ₁	60	+ 0,86
	C ₃	60	+ 0,68
	C ₅	60	+ 0,80
	C ₇	60	+ 0,78
Individus normaux	N ₂	56	+ 0,89
	N ₄	59	+ 0,84
	N ₆	51	+ 0,79
	N ₈	56	+ 0,86

Relation entre solubilité moyenne du collagène musculaire
et la dureté moyenne (WB) de chaque muscle étudié

Fig. 3



D9 - 21

Fig. 4

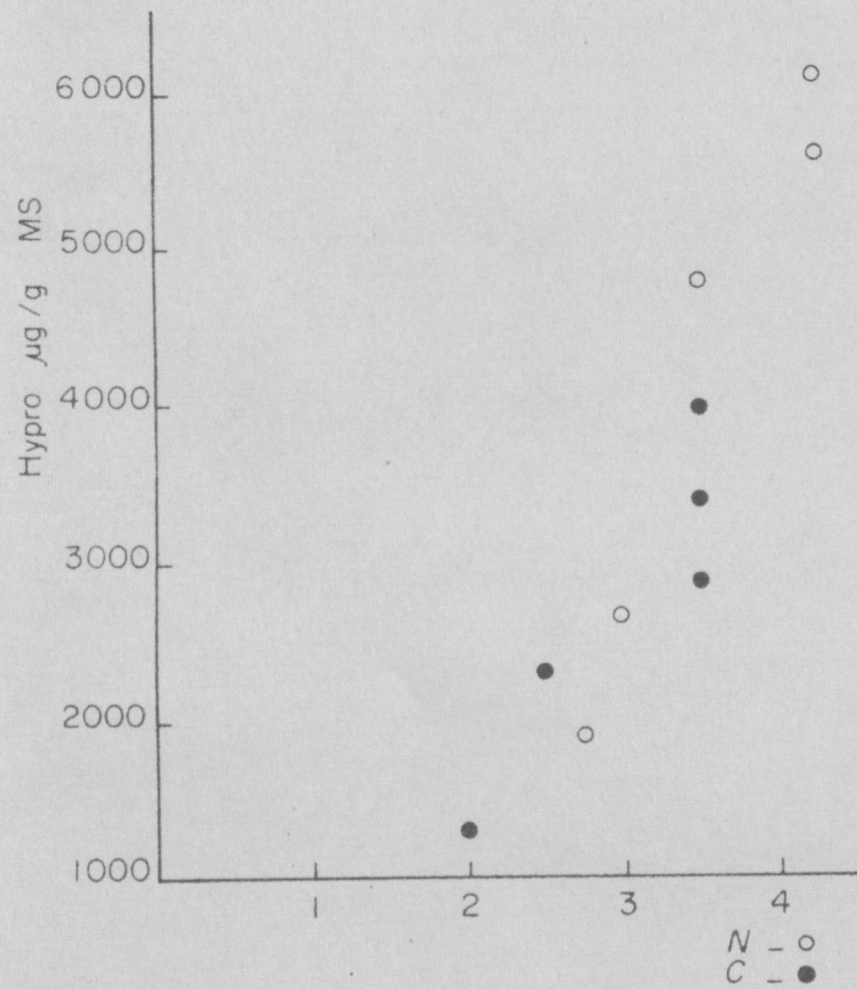


Fig. 5

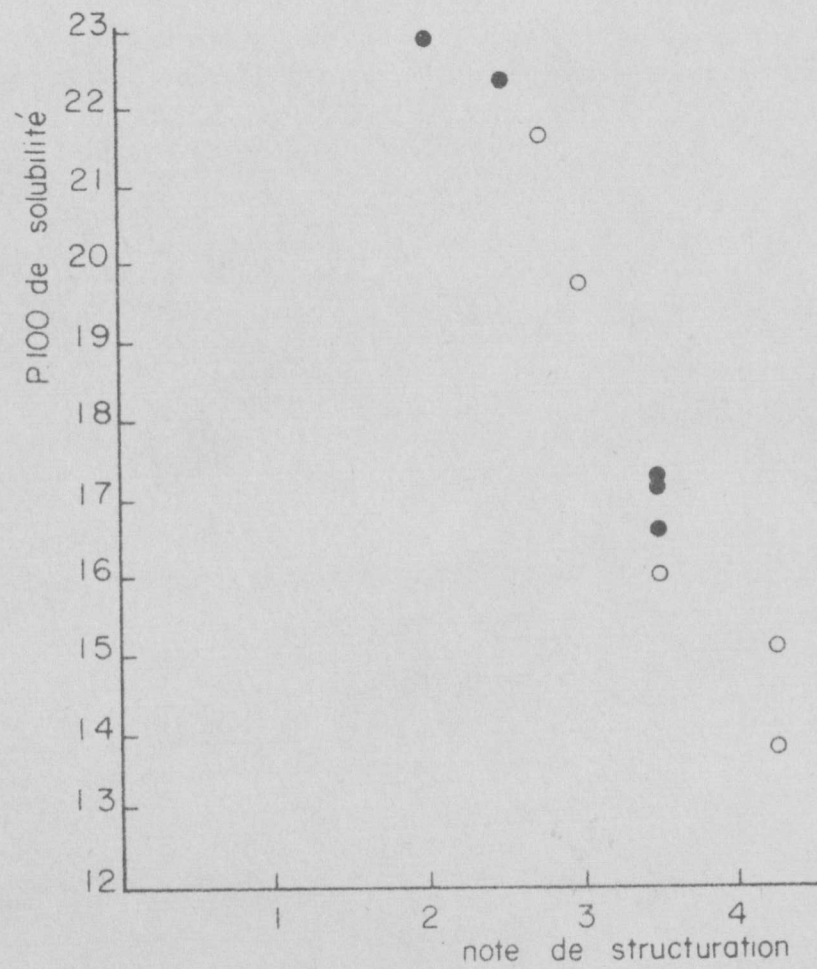


Fig. 6

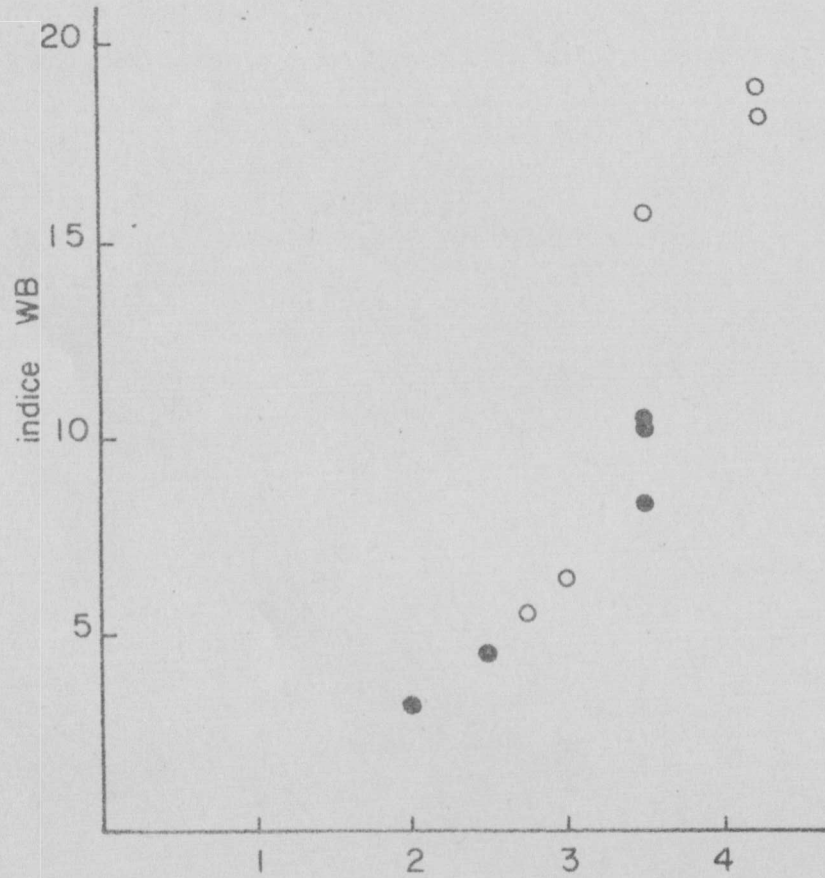
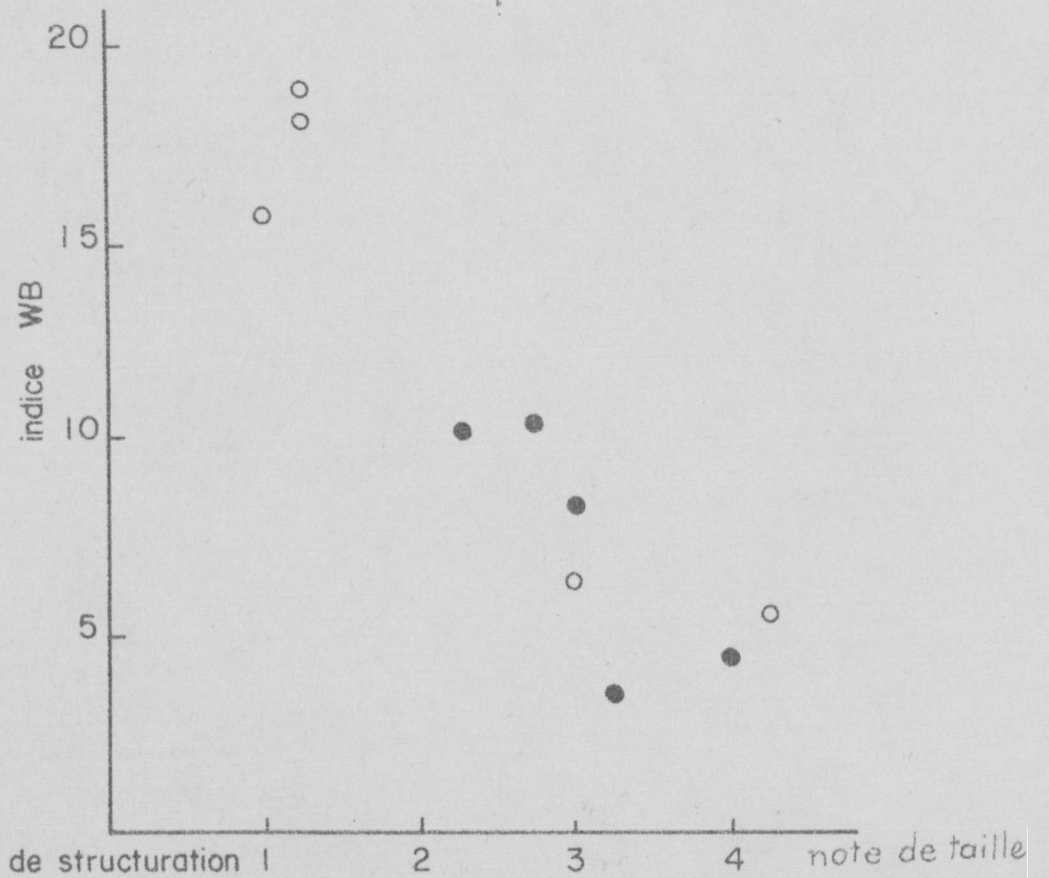


Fig. 7



note de structuration 1

2

3

4

note de taille

N - o

C - ●