

EVOLUTION DES PROTEINES MYOFIBRILLAIRES, DES PROPRIETES RHEOLOGIQUES ET  
DU POUVOIR DE RETENTION D'EAU DU MUSCLE DE BOVIN EN COURS DE CONSERVATION  
DE LONGUE DUREE, A BASSE TEMPERATURE ET EN MILIEU DE FAIBLE HYGROMETRIE

B.L. DUMONT et C. VALIN (\*)

# INTRODUCTION

Après la mort, le muscle présente des variations de consistance qui sont liées aux modifications de structure subies par le complexe des diverses protéines myofibrillaires.

Succédant à une phase de latence durant laquelle le muscle conserve une certaine élasticité, s'installe l'état caractérisé par l'établissement de liens entre la myosine et l'actine. Il s'agit d'un état relativement contracté qui confère au muscle une dureté prononcée. La rigor mortis est suivie, sans discontinuité notable, par un état de moindre résistance à la compression du muscle (SALE et VALIN, 1970) correspondant à une certaine forme de résolution de la rigidité primitive. Cette diminution de la consistance a été imputée à différentes causes :

- destruction des liens entre l'actine et la myosine (FUJIMAKI et al, 1965) ;
- altération de la liaison des filaments d'actine à la strie Z (PENNY, 1968) ;
- dégradation des molécules de la myosine (GUENTHER et TURBA, 1969) ;
- destruction de la strie Z (DAVEY et DICKSON, 1970) .

La plupart des études entreprises jusqu'à maintenant sur l'évolution des protéines myofibrillaires s'appliquaient à des temps de conservation relativement limités ( de 0 à 15 jours post mortem) . Dans ce travail nous rapportons l'évolution post mortem des propriétés de solubilité de l'actine et de la myosine du muscle de bovin lors de la conservation de longue durée ( de 5 à 54 jours) , à basse température positive et en milieu de faible hygrométrie.

Nous présentons aussi les résultats de la variation concomitante des propriétés rhéologiques et du pouvoir de rétention d'eau .

(\*) B.L. DUMONT : Laboratoire de Recherches sur la Viande ,  
Centre National de Recherches Zootechniques  
I.N.R.A.  
78350 JOUY-en-JOSAS

C. VALIN : Station de Recherches sur la Viande,  
Centre de Recherches de CLERMONT-FERRAND,  
I.N.R.A.  
63110 BEAUMONT

#### A/ MATERIEL

L'étude a porté sur huit taurillons de 24 mois de race Normande. Le muscle utilisé était une portion (d'environ 1000 g) du muscle Semimembranosus prélevé sur la carcasse cinq jours après la mort. Une première fraction de l'échantillon était alors immédiatement employée pour réaliser les divers contrôles mentionnés ci-dessous (cf B - Méthodes) et le restant était conservé dans un dessiccateur garni de substances absorbant la vapeur d'eau (actigel) et placé en ambiance froide (0, + 0,5°C). En cours de conservation, l'actigel était périodiquement remplacé au fur et à mesure de son humidification. Le contrôle de la viande en cours de stockage fut pratiqué à deux reprises, après 26 jours de conservation et après 54 jours de conservation. Lors des prises d'échantillons, pour ces contrôles, on procédait à la séparation de la partie superficielle de la viande, plus ou moins desséchée et décolorée, jusqu'à l'obtention, à l'intérieur de la masse de viande, d'une portion de couleur et d'humidité de surface normales.

On désignera ci-après par I, II et III les trois stades d'observation (5, 26 et 54 jours post mortem).

#### B/ METHODES DE CONTROLES

. La matière sèche fut déterminée par dessiccation de l'échantillon à l'étuve à 100°C, jusqu'à poids constant.

. L'extraction des protéines myofibrillaires a été réalisée à basse température (4°C) dans le milieu d'HASSELBACH SCHNEIDER (HS) (KCl 0,5M, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, Na<sub>4</sub> P<sub>2</sub> O<sub>7</sub> 10 mM, KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> 10 mM) à partir de 15 g de muscle broyé et homogénéisé dans sept volumes du milieu d'extraction, pendant quatre heures. Après quoi on ajoutait à nouveau sept volumes du milieu HS et les homogénats étaient centrifugés à 20.000 g pendant trente minutes. Les protéines myofibrillaires étaient ensuite purifiées par dilution des milieux d'extraction jusqu'à une force ionique de 0,05. Dans ces conditions les protéines myofibrillaires étaient précipitées et remises en solution dans un milieu KCl 0,6 M, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, tris HCl 0,02 M pH 7,2.

Après ce premier traitement les opérations de précipitation et de remise en solution étaient répétées une seconde fois. Les protéines en solution peuvent être considérées comme représentant l'actomyosine extractible dans nos conditions expérimentales (KHAN, 1962).

A partir de cette fraction nous avons successivement déterminé :

- l'importance de la contamination par les acides nucléiques (essentiellement ARN), par précipitation à l'acide trichloracétique à 10 % ;
- la myosine "totale" (MT), extraite de l'actomyosine après dissociation de celle-ci par addition de pyrophosphate tétrasodique 10mM et récupération du surnageant après centrifugation à 100.000g pendant deux heures (centrifugeuses SPINCO) (HERRING et al, 1969) ;



■ la myosine "libre" (ML) correspondant à la fraction de l'actomyosine soluble dans KCl 0,25 M (KHAN 1962) .

Les teneurs en protéines des diverses fractions ont été déterminées après dosage de l'azote par la méthode de KJELDAHL et par adoption du coefficient de transformation de 6,25 .

L'extraction des protéines myofibrillaires a été réalisée sur quatre animaux.

■ On a mesuré aussi, sur les échantillons, le pH, le pouvoir de rétention d'eau et les propriétés de texture. Celles-ci étaient appréciées pour chacun des échantillons d'une part par la détermination des forces de cisaillement à l'appareil de WARNER-BRATZLER (en considérant en moyenne quatorze carottes d'un demi-pouce de diamètre) et d'autre part, par la détermination de la force (F) et du travail (W) de cisaillement à l'appareil de SALE (1971), en moyenne sur seize éprouvettes de 1 cm de largeur et d'épaisseur.

La mesure du pouvoir de rétention d'eau était réalisée sur 5 g de viande broyée selon la méthode de GOUTEFONGEA en appliquant pendant deux minutes une pression de 0,068 Bar . On a déterminé aussi la perte d'eau subie par la viande broyée et soumise, dans l'appareil de VERMEIRE et SCHMITT, à des pressions de 2 à 10 Bar pendant deux et soixante minutes .

#### C/ RESULTATS ET DISCUSSION

Pendant la conservation on a noté une légère diminution de la teneur en eau, hautement significative, ( $P < 0,01$ ), des échantillons, d'un stade à l'autre :  $74,96 \pm 0,61$  pour le stade I ,  $73,85 \pm 0,83$  pour le stade II et  $72,99 \pm 1,36$  pour le stade III .

On a observé une diminution lente et régulière de l'extractibilité des protéines myofibrillaires, quelle que soit la forme d'actomyosine considérée (Tableau I). Dans le cas de l'actomyosine totale le pourcentage de diminution est, durant cette période, de 14,4 pour cent en moyenne, alors qu'il est de 16,8 pour cent pour l'actomyosine après précipitation par l'acide trichloracétique. La précipitation par l'acide trichloracétique permet d'apprécier l'importance de la contamination de l'actomyosine par les ARN. Cette contamination, de l'ordre de 16 pour cent en moyenne, ne paraît pas évoluer sensiblement au cours de la conservation . Les quantités d'ARN présentes dans cette fraction sont du même ordre de grandeur que celles de MIHALYI et ROWE (1966) trouvées sur le muscle de lapin dans des conditions d'extraction comparables. Cette stabilité des quantités d'ARN suggère d'autre part que l'activité ribonucléasique a été très faible, ce qui paraît en accord avec l'hypothèse que cette activité lysosomale n'est pratiquement pas relarguée post mortem.

On constate que les quantités d'actomyosine totale extraite sont encore relativement élevées après huit semaines environ de conservation. Les valeurs observées sont de l'ordre de celles qui ont été enregistrées par VALIN et PINKAS (1971) un jour post mortem. Il semblerait donc que la dénaturation des protéines myofibrillaires que pourrait traduire la diminution de leur solubilité soit un phénomène relativement limité, même après un laps de temps assez important après la mort.

Le tableau I indique aussi l'évolution, avec le temps, de la solubilité des différentes fractions myofibrillaires étudiées.

En valeur absolue la myosine totale extraite diminue d'environ 9 pour cent entre cinq et cinquante-quatre jours post mortem. En pourcentage de l'actomyosine, cette fraction est relativement stable.

L'extractibilité de la myosine libre reste pratiquement constante pendant cette période.

Ces résultats confirment ceux obtenus dans une étude antérieure (DUMONT et VALIN, 1973) portant sur du muscle de bovin légèrement plus jeune (taurillons de 18 mois), conservé de la même manière, de dix à quarante-cinq jours et dont l'évolution avait été suivie de semaine en semaine. Dans la présente étude on n'a toutefois pas assisté au cours de la conservation à une augmentation sensible du rapport de la myosine libre à la myosine totale comme cela avait été le cas précédemment. Ce fait, joint à l'observation que les animaux avaient une origine commerciale différente, suggère que les taux extractibles par les méthodes que nous avons utilisées de myosine totale et de myosine libre (par gramme de muscle), varient en fonction des origines des animaux.

Les résultats concernant les propriétés physiques des échantillons figurent aux tableaux II et III.

On note, au cours de la conservation une augmentation (significative à  $P < 0,01$ ) du pH qui passe de 5,80 au stade I, à 5,97 au stade II et à 6,29 au stade III. L'accroissement du pH, plus marqué entre 26 et 54 jours de conservation, n'a pas également affecté les différents échantillons comme l'indique la valeur des coefficients de variation du caractère qui est de 14,1 % au stade II et de 27,5 % au stade III. A ce moment, la moitié des échantillons présentaient encore un pH  $\leq 6,20$ .

Les forces de cisaillement au Warner Bratzler n'ont pas évolué de façon significative au cours de la conservation. L'analyse de variance ne révèle pas d'effet de la conservation mais une forte variation entre individus, les coefficients de variation étant respectivement de 19,6, 26,7 et 24,3 % pour chacun des trois stades.



De même on n'enregistre pas, au cours de la conservation, de variation significative de la force maximum de cisaillement (F) à l'appareil de SALE<sup>1</sup>, pas plus que de variation du travail (W) mis en oeuvre pour cisailier la viande. Le rapport  $W/F$  n'évolue pas non plus de façon significative.

On assiste par contre, comme l'indique le tableau III, à une variation notable du pouvoir de rétention d'eau, au fur et à mesure que progresse le temps de conservation.

Avec le temps, le pouvoir de rétention d'eau augmente sensiblement, même lorsque la viande est soumise, pendant des temps très longs à des pressions élevées.

Les résultats obtenus méritent d'être examinés en rapport avec ce qu'il est convenu d'appeler le phénomène de la maturation de la viande. Le début de la période d'examen de nos échantillons, cinq jours après la mort, se situe, en effet, à un stade où le phénomène a commencé déjà à se manifester de façon sensible, du moins avec le type d'animal considéré ici. De un à huit jours post mortem on assiste à une augmentation de la solubilité des protéines myofibrillaires (VALIN et PINKAS, 1971). En même temps le travail et la force de cisaillement de la viande diminuent, ce qui traduit une amélioration de la tendreté de la viande. De huit à quinze jours post mortem (VALIN et GOUTEFONGEA, travaux en cours) la solubilité myofibrillaire n'augmente plus et, parallèlement, le rapport du travail à la force de cisaillement demeure constant.

Le comportement ultérieur de la viande que nous avons étudié jusqu'à cinquante-six jours post mortem; se caractérise par une diminution progressive de l'extractibilité des protéines myofibrillaires sans qu'on enregistre de modification dans les propriétés rhéologiques, liées à la texture de la viande. On peut considérer dès lors que sur le plan de la tendreté, dans le cas des types d'animaux étudiés ici (jeunes taurillons de 24 mois), la prolongation du délai de stockage avant utilisation ne s'accompagne pas d'amélioration du caractère :

- la force maximum de cisaillement, quelle que soit son mode de mesure, ne change pas, ce qui conduit à penser que la composante de la dureté qui se manifeste par ce paramètre (essentiellement la trame conjonctive) n'est pas affectée lors de la maturation ;

- la résistance de la viande à la compression, que traduit le rapport  $W/F$ , n'évolue pas, ce qui suggère que les modifications de structure subies par les protéines myofibrillaires et dont témoignent les variations des propriétés d'extractibilité ne retentissent pas sur ce caractère rhéologique. Les variations que manifeste ce rapport dans les huit jours qui suivent la mort (SALE<sup>1</sup> et VALIN) sont vraisemblablement liées à des changements de structure dont la nature - plus que l'importance - doit être différente de celle qui se produisent par la suite .

La variation du pouvoir de rétention d'eau qui est constatée pendant la conservation est probablement à rapprocher de l'évolution des protéines myofibrillaires .

L'augmentation du pouvoir de rétention d'eau pourrait peut-être résulter d'une augmentation de la charge de ces protéines.

Une hypothèse qui pourrait également expliquer une variation du pouvoir de rétention d'eau serait la pollution microbienne des échantillons. Bien que cette dernière ne puisse être exclue ( les contrôles bactériologiques n'ayant pas été envisagés, dans cette première phase de l'étude) on doit faire remarquer que sa présence éventuelle ne s'est pas traduite par une augmentation très sensible du pH. Les travaux en cours permettront de préciser la part des phénomènes microbiens pendant cette conservation ainsi que le détail des altérations subies par les diverses fractions des protéines myofibrillaires dont les méthodes d'extraction et d'étude présentement utilisées n'avaient qu'une portée d'analyse assez générale. Sur le plan pratique il y aurait lieu aussi de vérifier comment s'établissent , dans le temps, les rapports entre l'évolution des protéines myofibrillaires et les caractères des viandes de diverses origines zootechniques et technologiques, pour utiliser, au mieux, les phénomènes dits de la maturation.

---

Ce travail a été réalisé avec la collaboration technique de Madame J. ROUSSEL , que nous remercions pour sa coopération. Nous sommes reconnaissants à MM. DURAND et GAYE pour l'aide matérielle qu'ils nous ont apportée en nous permettant de réaliser certaines manipulations de cette étude .



| Stade de conservation | pour 15 g de tissu frais ( en mg) |                                        |               |                | Myosine totale Acto-myosine % | Myosine libre Myosine totale % |
|-----------------------|-----------------------------------|----------------------------------------|---------------|----------------|-------------------------------|--------------------------------|
|                       | Actomyosine totale                | Actomyosine après précipitation du TCA | Myosine libre | Myosine totale |                               |                                |
| I (5 jours)           | 883,2                             | 740,5                                  | 532,5         | 601,5          | 68,1                          | 88,5                           |
| II(26 jours)          | 812,0                             | 693,7                                  | 481,5         | 566,7          | 69,8                          | 85,0                           |
| III(54 jours)         | 756,3                             | 616,0                                  | 501,7         | 546,2          | 72,2                          | 91,9                           |

TABLEAU II .- Variation du pH et des propriétés rhéologiques

|                                                                        | Stade de conservation |      |               |      |                |      | Influence<br>du délai de<br>conservation |
|------------------------------------------------------------------------|-----------------------|------|---------------|------|----------------|------|------------------------------------------|
|                                                                        | I (5 jours)           |      | II (26 jours) |      | III (54 jours) |      |                                          |
|                                                                        | $\bar{x}$             | CV % | $\bar{x}$     | CV % | $\bar{x}$      | CV % |                                          |
| pH                                                                     | 5,80                  | 17,3 | 5,97          | 14,1 | 6,29           | 27,5 | xx P<0,01                                |
| Force de<br>cisaillement<br>Warner-Bratzler<br>(en Newton)             | 49,98                 | 19,6 | 50,08         | 26,7 | 53,21          | 24,3 | NS                                       |
| Force(F) de<br>cisaillement<br>à l'appareil<br>de Salé<br>( en Newton) | 46,18                 | 9,3  | 51,12         | 21,7 | 46,07          | 8,8  | NS                                       |
| Travail de<br>cisaillement<br>(W) (en<br>millijoules)                  | 137,34                | 8,6  | 150,82        | 19,1 | 126,51         | 11,3 | NS                                       |
| W/F<br><br>(millijoules<br>par Newton)                                 | 2,99                  | 10,9 | 2,73          | 11,3 | 2,72           | 5,8  | NS                                       |

TABLEAU III .- Evolution du pouvoir de rétention d'eau (perte de jus, par pression, dans différentes conditions).

|                                                      | Stade de conservation |       |       |
|------------------------------------------------------|-----------------------|-------|-------|
|                                                      | I                     | II    | III   |
| Appareil de Goutefongea <sup>(*)</sup><br>-2 minutes | 14,03                 | 7,55  | 5,53  |
| Appareil de Vermeire et Schmitt                      |                       |       |       |
| - 2 Bar , 2 minutes                                  | 33,80                 | 23,15 | 17,20 |
| - 2 Bar ,60 minutes                                  | 47,30                 | 39,55 | 32,30 |
| -10 Bar , 2 minutes                                  | 42,54                 | 32,83 | 25,10 |
| -10 Bar ,60 minutes                                  | 58,19                 | 51,0  | 42,90 |

(\*) Le modèle utilisé dans cet essai a une surface de pression de 34,11 cm<sup>2</sup> et une masse pressante de 2382 g. La pression exercée est de 0,0685 Bar .

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- DAVEY C.L. et DICKSON M.R. - 1970. Studies in meat tenderness 8 - Ultra-structural changes in meat during aging .  
J. Food Sci., 35 (1), 56-60 .
- DUMONT B.L. et VALIN C. - 1973. Conservation de longue durée à basse température et en milieu de faible hygrométrie du muscle de bovin : évolution des protéines myofibrillaires.  
Ann.Technol.agric.,22 ( sous presse) .
- FUJIMAKI M., ARAKAWA N., OKITANI A. and TAGAGI O.  
1965. The changes of myosin B during storage of rabbit muscle.  
J.Food Sci., 30 (6), 937-943 .
- GUENTHER H. and TURBA F. 1969. Changes of some protein fractions of beef muscle post mortem .  
J.Food Sci., 34 (5), 469-470 .
- HERRING H.K., CASSENS R.G., FUKAZAWA T. and BRISKEY E.J.  
1969. Studies on bovine natural actomyosin-2- Physico-chemical properties and tenderness of muscle .  
J.Food Sci., 34 (6), 571-576 .
- KHAN A.W. 1962. Extraction and fractionation of proteins in fresh chicken muscle .  
J.Food Sci., 27 (5), 430-434 .
- MIHALYI E. and ROWE A.J. 1966. Studies on the extraction of actomyosin from rabbit muscle .  
Biochim. Z., 345 , 267-295 .
- PENNY I.F. 1968. Effect of ageing on the properties of myofibrils of rabbit muscle.  
J.Sci.Fd Agric., 19, 518-524 .
- SALE P. et VALIN C. 1970. Problèmes posés par la détermination des modifications de la structure du muscle au cours de la maturation.  
16th European Meeting of meat Research Workers, VARNA .
- SALE P. 1971. Evolution de quelques propriétés mécaniques du muscle pendant la maturation.  
17th European Meeting of meat Research Workers, BRISTOL , 110-118 .
- VALIN C. et PINKAS A. 1971. La maturation de la viande. Evolution post mortem de la tendreté et transformations biochimiques des protéines myofibrillaires.  
Ann.Technol.agric., 20 (2), 167-178 .



## RESUME

### EVOLUTION DES PROTEINES MYOFIBRILLAIRES, DES PROPRIETES RHEOLOGIQUES ET DU POUVOIR DE RETENTION D'EAU DU MUSCLE DE BOVIN EN COURS DE CONSERVATION DE LONGUE DUREE, A BASSE TEMPERATURE ET EN MILIEU DE FAIBLE HYGROMETRIE

On a étudié l'évolution des protéines myofibrillaires du muscle Semimembranosus de bovin (jeunes taurillons de 24 mois), conservé à + 0,5°C en milieu de faible hygrométrie, de 5 à 56 jours post mortem. On a observé une lente diminution de la solubilisation de l'actomyosine alors que la teneur en myosine libre restait pratiquement constante, de même que l'importance des acides ribonucléiques. La teneur en eau de la viande a diminué ( $P < 0,01$ ) de 74,96 à 72,99 % et le pH a augmenté de 5,80 à 6,29.

La maturation, installée de façon précoce chez le type d'animal étudié comme l'indique les valeurs initiales élevées du rapport  $\frac{\text{Myosine libre}}{\text{myosine totale}}$  (88,5 % cinq jours post mortem) ne s'est pas traduite en cours de conservation par d'importantes modifications des caractères rhéologiques.

Les forces de cisaillement (à l'appareil de Warner Bratzler et à l'appareil de Salé), de même que le travail de cisaillement n'ont pas varié, de façon significative, au cours de la conservation.

Par contre le pouvoir de rétention d'eau a considérablement augmenté. Il est suggéré que ce phénomène pourrait être dû, entre autres, à une augmentation sensible, au cours de la conservation de la charge des protéines musculaires.

## SUMMARY

### EVOLUTION OF MYOFIBRILLAR PROTEINS, RHEOLOGICAL PROPERTIES AND WATER HOLDING CAPACITY OF BEEF MUSCLE DURING LONG TIME STORAGE AT LOW TEMPERATURE AND IN LOW RELATIVE HUMIDITY

Evolution of myofibrillar proteins was studied in Semimembranosus muscle of young bulls of 24 months old, kept at + 0,5°C in low relative humid atmosphere from 5 to 56 days post mortem. A slow decrease of actomyosin was observed. The amount of "free myosin", as well as the amount of RNA was nearly constant during storage. Water percentage significantly decreased ( $P < 0,01$ ) from 74,96 to 72,99 % and pH increased from 5,80 to 6,29.

Aging, which seemed to be early installed in this type of animal (as it is suggested by the high value of the ratio "free"myosin to "total" myosin, which was 88,5 % five days post mortem), was not accompanied, during long terme storage, by great modifications of the rheological properties of meat. Shear forces (measured with the Warner Bratzler and with the Salé apparatus) and shearing work did not vary significantly during aging.

The water holding capacity greatly increased. It is suggested that this phenomenon could be partly due to the increase of the muscular proteins charge during storage.

## ZUSAMMENFASSUNG

ENTWICKLUNG DER MYOFIBRILLEPROTEIN, DER RHEOLOGISCHEN EIGENSCHAFTEN UND DES WASSERBINDUNGSVERMÖGENS IM RINDERMUSKEL WÄHREND AUFBEWAHRUNG BEI NIEDRIGER TEMPERATUR UND SCHWACHER LUFTFEUCHTIGKEITSGEHALT.

Die Entwicklung der Myofibrilleprotein im m.Semimembranosus beim Rind ( 2 Jahre alten Juhgbullen) wurde während einer Lagerung bei 0,5°C und bei niedrigen Luftfeuchtigkeitsgehalt, vom 5.bis zum 56.Tag post mortem untersucht. Eine langsame Abnahme der Actomyosinsolubilisierung wurde beobachtet, während der Gehalt an freiem Myosin und die Ribonukleinsäuren konstant blieben. Eine Abnahme des Wassergehaltes im Fleisch (  $P < 0,01$ ) von 74,96 auf 72,99 % und eine pH-Werterhöhung von 5,80 auf 6,29 wurden festgestellt.

Wie aus den hohen Anfangswerten des Verhältnisses  $\frac{\text{freie Myosin}}{\text{Gesamt Myosin}}$  (88,5 % am 5.Tag post mortem) zu ersehen ist, drückt sich die bei der untersuchten Tierklasse frühzeitig vorkommende Reifung nicht durch grosse Veränderungen der rheologischen Eigenschaften während der Aufbewahrung aus .

Es ergab sich ebenfalls keine signifikante Veränderung der Scherkräfte (Anlagen von Warner Bratzler und Salé) und der Scherarbeit während der Aufbewahrung.

Dagegen nahm das Wasserbindungsvermögens beträchtlich zu. Es wurde vorgeschlagen, diesen Vorgang u.a. auf eine deutliche Zunahme der Muskelproteinladung während der Aufbewahrung zurückzuführen .