

G/4

TRAITEMENT DES VIANDES PAR IRRADIATION II
EFFET SUR LA VITAMINE B₁₂ ET LES LACTOBACILLES*

Moreau**, J.R., Simard, C. et Lachance, R.A.

Départements des Vivres et d'Agrobiologie

Université Laval, Québec, Canada, G1K 7P4

* Projet supporté par Atomic Energy of Canada Ltd.

** Présentement au département de Génie chimique, Université Laval
Québec, Canada, G1K 7P4 .

INTRODUCTION

Nous avons étudié l'effet de l'irradiation en vue de la stérilisation ou pasteurisation des viandes rouges fraîches et saumurées. Afin de rendre les études significatives au point de vue marketing, on utilise des méthodes reflétant le plus possible les conditions industrielles. Nos expériences ont couvert l'effet de faibles et fortes doses d'irradiation sur la rétention de la vitamine B₁₂ dans la viande de boeuf hachée emballée en plastique hautement perméable à l'air ou oxygène, et dans les saucisses fumées emballées sous vide en matériel imperméable à l'oxygène.

De façon naturelle, la vitamine B₁₂ est rencontrée quasi exclusivement dans la viande et sa stabilité à l'irradiation devient donc importante au point de vue nutritif. Peu d'auteurs ont oeuvré dans ce domaine. Travaillant avec une solution pure de vitamine B₁₂ de 15 ug/ml, Markakis et al. (1951) ont démontré des taux de rétention de 77, 67, 52 et 32% à des doses d'irradiation de 2,500, 4,500, 8,100 et 14,600 reps. Dans le filet d'aiglefin frais en emballage perméable à l'air la vitamine B₁₂ n'est pas affectée de façon significative par une dose de 2,500 Krads (Brooke et al., 1966).

Selon Evans et Batzer (1960) la destruction de B₁₂ dans la viande de boeuf fraîche irradiée à 3,000 Krads serait d'environ 40%. Très peu d'information semble disponible concernant l'effet de l'irradiation sur la vitamine B₁₂ dans les viandes saumurées qui pourtant constituent une portion importante de la diète.

Nos études ont aussi porté sur l'influence de doses pasteurisantes d'irradiation sur les lactobacilles dans les viandes saumurées (saucisses fumées) emballées sous vide en plastique imperméable à l'oxygène. Ce procédé d'emballage sous vide des viandes saumurées permet d'éliminer la multiplication

de nombreux microorganismes; il n'a pas, toutefois, résolu le problème de certaines bactéries responsables du sùrissement des viandes, en particulier, Lactobacillus viridescens. Ces bactéries psychrophiles facultatives sont résistantes aux faibles pH et à des concentrations de NaCl allant jusqu'à 5.5% (Buttiaux et Morianez, 1955).

La croissance de ces bactéries microaérophiles est favorisée de façon sélective par l'emballage sous vide des viandes saumurées (Solberg, 1967). Il en résulte aussi un verdissement rapide lorsque le produit est subséquentement exposé à l'oxygène. Drake et al. (1960) ont remarqué la disparition totale des lactobacilles hétérofermentaires dans le jambon en boîte irradié à des doses d'environ 1 Mrad . Ces mêmes auteurs (1958) trouvèrent un effet destructif de doses d'irradiation de 230 et 460 Krads sur les lactobacilles naturellement présents sur les saucisses fumées. Wanatabe et al. (1969) irradiant des saucisses fumées cuites aux micro-ondes et contaminées avec une culture mixte trouvèrent un taux de survivance de près de 0 après une irradiation de 300 Krads.

Nos travaux se distinguent des précédents, entre autres, par l'emploi de cultures pures en fortes concentrations et par l'étude de l'intégrité physiologique des microorganismes.

MATERIEL ET METHODES

Les échantillons sont irradiés au moyen de rayons gamma provenant d'une source de Cobalt-60 dans une unité Gammacell modèle 220, No 105 fournie par Atomic Energy of Canada Ltd. L'appareil est d'une puissance de 15,163 curies au début des expériences. Une température de 22°C est maintenue durant l'irradiation. La viande de boeuf hachée est emballée en portions

de 260 g en plastique perméable à l'oxygène; ces emballages sont placés dans des récipients cylindriques en carton et disposés dans l'axe vertical de l'enceinte cylindrique de l'irradiateur. Les saucisses fumées emballées sous vide, deux à deux, dans des sacs de plastique imperméable à l'oxygène et placés dans l'axe vertical de l'enceinte cylindrique de l'irradiateur.

a) La stabilité de la vitamine B₁₂

L'extraction de la vitamine B₁₂ des viandes se fait en les broyant à l'aide d'un "Waring Blendor" dans un tampon citrate-phosphate 0.1 M, pH 5.0 (Jukes et al. (1954). Le tampon contient du cyanure de potassium, de façon à obtenir un rapport KCN/B₁₂ approximativement égal à 10. Ensuite on chauffe l'homogénat à 121 °C pendant 15 minutes. Des solutions de vitamine en milieu tampon sont aussi préparées et irradiées en portions de 125 ml. La vitamine B₁₂ est ensuite mesurée selon la méthode de Ford (1953) utilisant Ochromonas malhamensis (Pringsheim) ATCC 11532. La méthode décrite dans le manuel Difco (1963) utilisant Lactobacillus leichmannii ATCC 7830 est aussi employée.

La validité de la méthode est vérifiée en ajoutant des quantités connues de vitamine B₁₂ à des extraits de viande.

b) Résistance des Lactobacillus viridescens ATCC 12706

L'inoculum est préparé selon la méthode légèrement modifiée de Matches et Liston (1968). On met la culture dans un bouillon (M.R.S. Broth, Difco). Après une incubation de 20 heures à 37 °C on obtient une culture en phase stationnaire, stage de résistance le plus élevé selon les résultats obtenus par Dupuy et Trémeau (1963) avec L. arabinosus. Cette culture est alors diluée dans de l'eau peptonée (0.1%) stérile. La concentration en microorganismes est évaluée en mesurant la densité optique à 600 mμ.

De façon à minimiser la contamination naturelle les saucisses fumées utilisées sont prélevées directement à la sortie du fumoir dans une charcuterie commerciale conservées à -45°C , décongelées à 3°C , avant emploi.

Manipulées de façon aseptique elles sont inoculées en surface à un taux de 10^5 germes/cm² avant d'être emballées et irradiées. Après irradiation, la surface des saucisses fumées est lavée dans 128 ml d'eau peptonée (0.1 %) stérile. Les germes sont dénombrés à partir de cette eau de lavage en utilisant les 3 milieux Difco suivants: M.R.S. Agar, A.P.T. Agar et Rogosa S.L. Agar. Pour plus de sensibilité, le nombre de L. viridescens présents sur les saucisses irradiées à 500 Krads est déterminé par la méthode du "Most Probable Number" en utilisant le milieu "M.R.S. Broth" de Difco.

L'intégrité physiologique de Lactobacillus viridescens après irradiation sur saucisses fumées est contrôlée selon la méthode de Sharpe (1962).

RESULTATS

a) Stabilité de la vitamine B₁₂

Les deux méthodes employées semblent être valides lorsqu'on mesure les quantités connues ajoutées à l'extrait. En solution tampon la vitamine B₁₂ est complètement détruite par une dose d'irradiation de 200 Krads. Bien qu'instable en solution aqueuse (Tableau 1), la vitamine B₁₂ est relativement stable à l'irradiation en présence de viande de boeuf hachée (Tableau 2).

Dans les saucisses fumées les deux méthodes employées démontrent une très bonne stabilité de la vitamine B₁₂ sous irradiation (Tableaux 3 et 4).

Les deux méthodes microbiologiques de dosage utilisées semblent donner des résultats passablement similaires avec la saucisse fumée (Tableau 4).

b) Résistance de Lactobacillus viridescens ATCC 12706

Ces résultats furent obtenus avec des saucisses fumées ne contenant originalement que 2 bactéries par cm^2 . Les doses nécessaires pour inactiver 90% (D_{10}) des L. viridescens sur saucisses fumées emballées sous vide sont d'environ 60 Krads (Fig 1). Le pouvoir de récupération des lactobacilles varie peu avec le milieu utilisé, contrairement à ce qu'a été observé lors des expériences précédentes avec les salmonelles, staphylocoques et streptocoques (Simard et al. 1973).

La destruction des lactobacilles obéit à une loi du premier ordre. A 300 Krads on obtient un taux de destruction de 99.99%. Selon les calculs de Thornley (1963), il serait suffisant d'irradier les saucisses fumées emballées sous vide à une dose de 384 Krads ($6 \times D_{10}$). L. viridescens conserve son intégrité physiologique après irradiation à différents niveaux (Tableau 4).

CONCLUSIONS ET DISCUSSIONS

La vitamine B_{12} dans la viande de boeuf hachée fraîche et dans la viande saumurée emballées de façon commerciale semble très peu affectée par l'irradiation même à de fortes doses (4.0 Mrads). Les résultats obtenus avec la viande fraîche sont différents de ceux cités par Evans et Batzer (1960) rapportant une perte de 40% de vitamine B_{12} à 3,000 Krads. La stabilité à l'irradiation de la vitamine B_{12} dans la viande saumurée est extrêmement bonne, elle ne semble pas avoir fait l'objet d'étude rapportée dans la littérature.

Une dose d'irradiation de 384 Krads est plus que suffisante pour inactiver ($6 \times D_{10}$). Lactobacillus viridescens sur saucisses fumées emballées sous

vide. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Wanatabe et al. (1969) avec des saucisses fumées, toutefois différentes puisque cuites aux micro-ondes et contaminées avec une culture mixte de diverses bactéries et levures. Une dose d'irradiation maximum de 500 Krads comprise dans le niveau communément appelé radurisation ou pasteurisation a été trouvée suffisante, dans des expériences précédentes et des conditions analogues, pour inactiver les bactéries importantes au point de vue hygiénique: les salmonelles, staphylocoques et streptocoques (Simard et al.). Elle peut aussi inactiver Lactobacillus viridescens, organisme habituellement responsable du verdissement et sùrissement des viandes saumurées. D'après ces expériences menées de façon à simuler les conditions industrielles il semblerait utile au point de vue hygiène et contrôle des lactobacilles d'irradier les viandes fraîches et saumurées à 500 Krads. L'influence de cette dose sur les qualités organoleptiques fait partie d'une autre étude.

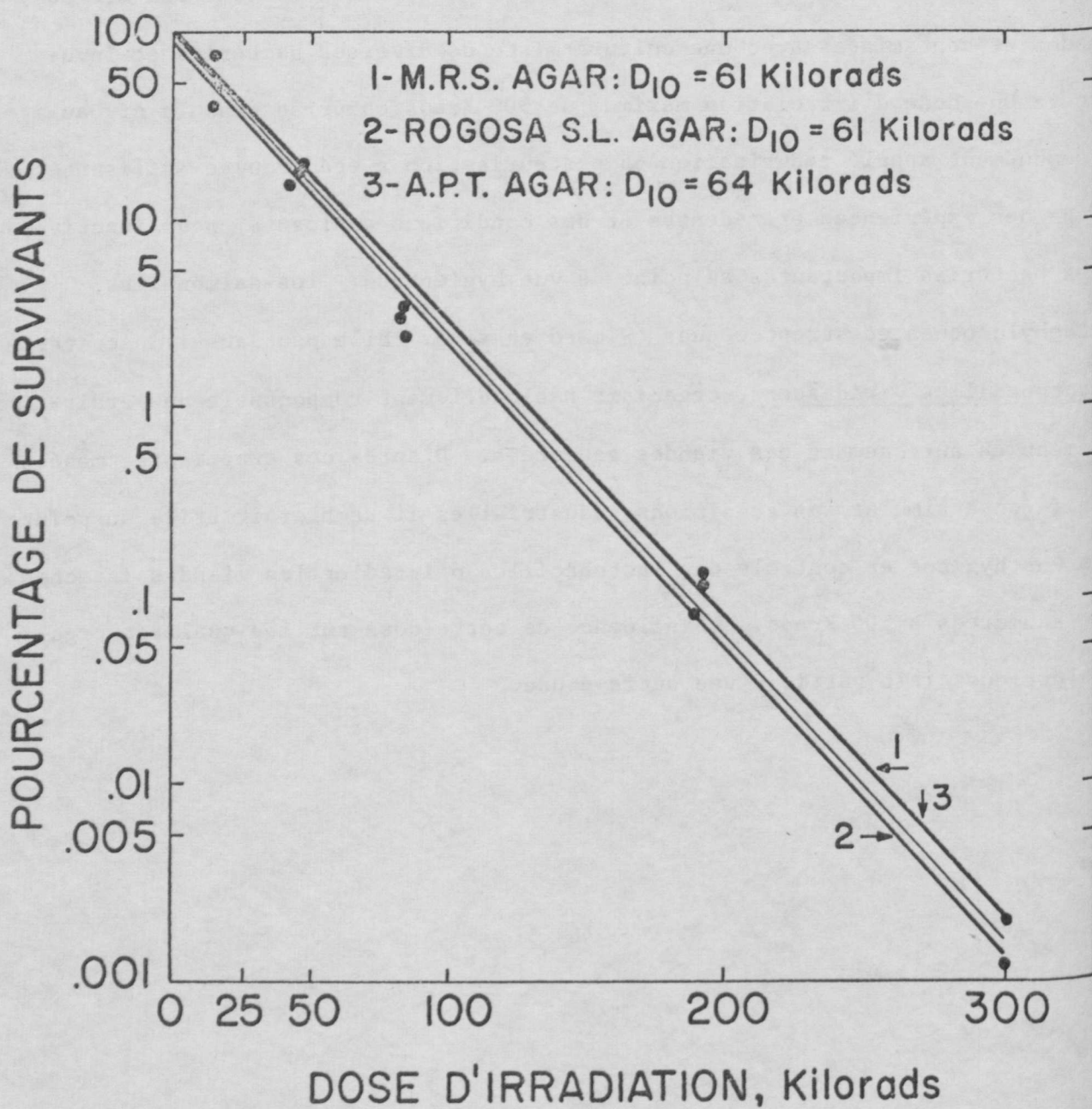


Fig. 1 - Effet de l'irradiation sur *Lactobacillus viridescens* sur saucisses fumées emballées sous vide.

Tableau 1. Effet de l'irradiation sur la rétention de la vitamine B₁₂ en solution aqueuse.
 Dosage par la méthode de Ford (*O. malhamensis*)

Dose Mrads	Vitamine B ₁₂ * ug/100 ml
0	1.45
0	1.44
0	1.32
0.2	0
0.2	0
0.2	0
1.0	0
1.0	0
1.0	0
4.0	0
4.0	0
4.0	0

* Chaque résultat représente la médiane de 3 tubes.

Tableau 2. Effet de l'irradiation sur la rétention de la vitamine B₁₂ dans la viande de boeuf hachée emballée en plastique perméable à l'oxygène.
 Dosage par la méthode de Ford (*O. malhamensis*)

Dose Mrads	Vitamine B ₁₂ * (ug/100 g viande) après entreposage		
	0 jour	7 jours à 2°C	7 jours à -40°C
0.0	1.63	1.69	1.67
0.2	1.55	1.48	1.44
0.5	1.50	1.48	1.50
1.0	1.55	1.59	1.52
2.0	1.61	1.56	1.66
4.0	1.50	1.41	1.46

* Chaque résultat représente la moyenne de 3 expériences dans chacune desquelles la valeur médiane de trois tubes fut retenue pour les calculs.

Tableau 3. Effet de l'irradiation sur la rétention de la vitamine B₁₂ dans la saucisse fumée emballée sous vide.
 Dosage par la méthode de Ford (O. malhamensis).

Dose Mrads	Vitamine B ₁₂ * (ug/100 g viande) après entreposage	
	0 jour	7 jours à 2-3°C
0	0.99	1.00
0.5	0.99	0.99
1.0	0.98	0.97
2.0	0.97	1.01
4.0	1.01	0.99

* Chaque résultat représente la moyenne de 3 expériences dans chacune desquelles la valeur médiane de trois tubes fut retenue pour les calculs.

Tableau 4. Comparaison des deux méthodes utilisant O. malhamensis ou L. leichmannii pour le dosage de la vitamine B₁₂ dans les saucisses fumées emballées sous vide.

Données obtenues immédiatement après irradiation

Dose Mrads	Vitamine B ₁₂ * (ug/100 g viande)			
	Test No 1		Test No 2	
	<u>O. malhamensis</u>	<u>L. leichmannii</u>	<u>O. malhamensis</u>	<u>L. leichmannii</u>
0	0.92	0.93	1.09	1.09
0.5	1.02	1.02	1.05	1.02
1.0	0.89	0.86	1.09	1.00
2.0	0.92	0.92	1.09	1.07
4.0	0.96	0.91	1.18	1.09

* Chaque résultat représente la médiane de 3 tubes.

Tableau 5. Tests de contrôle de l'intégrité de L. viridescens après irradiation.

Milieu d'origine : M.R.S. Agar.

Dose Kilorads	Colonies lenticulaires blanches	Gram	Catalase	Développement sur M.R.S. Broth		NH ₃ de l'arginine	CO ₂ du glucose
				15°C	45°C		
0	+	+	-	+	-	-	+
25	+	+	-	+	-	-	+
50	+	+	-	+	-	-	+
100	+	+	-	+	-	-	+
200	+	+	-	+	-	-	+
300	+	+	-	+	-	-	+

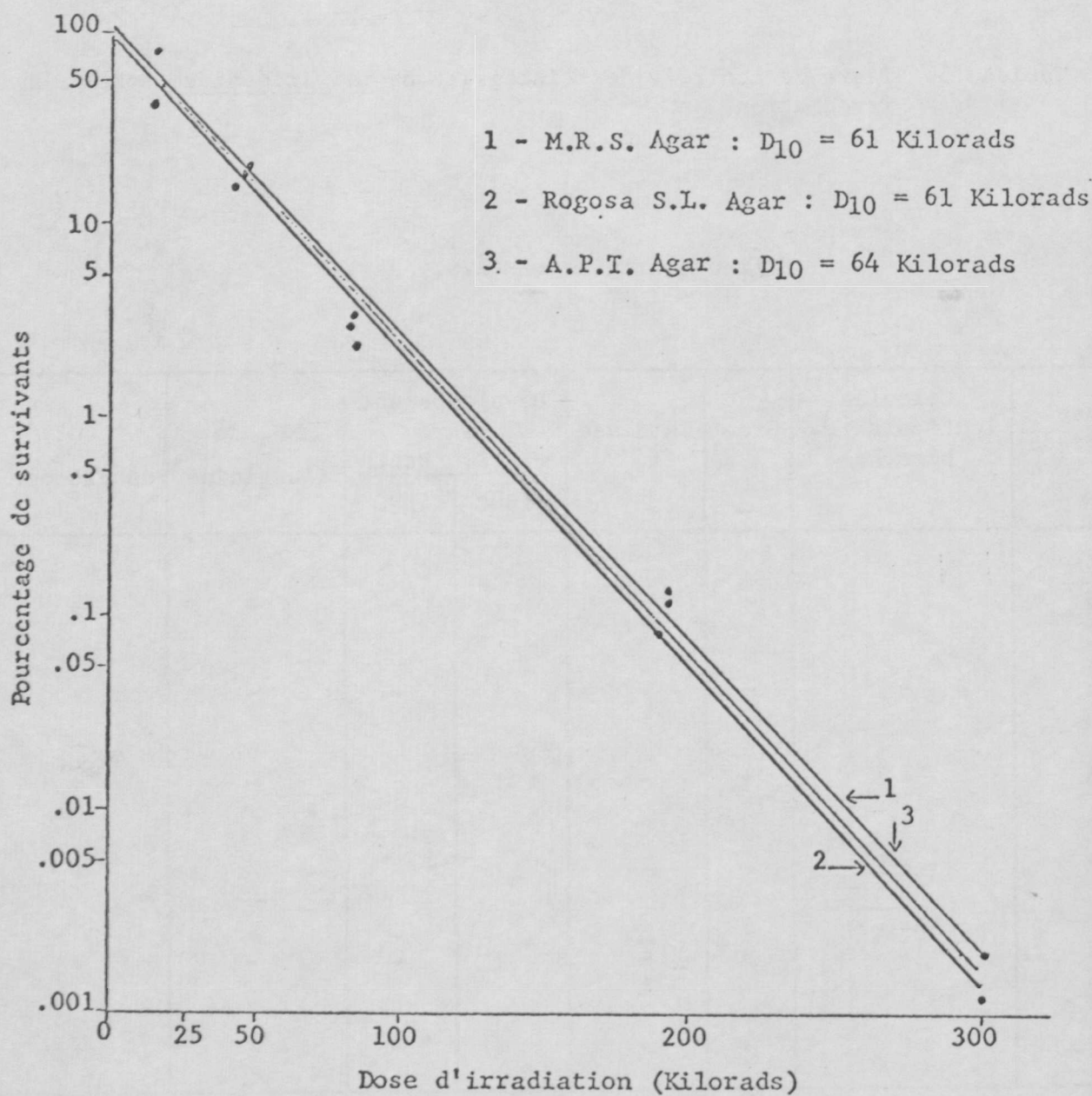


Fig. 1 - Effet de l'irradiation sur L. viridescens, sur saucisses fumées.

BIBLIOGRAPHIE

- Brooke, R.O., Ravesi, E.M., Gadbois, D.E. and Steinberg, H.A., 1966.
The aspects of radiation pasteurisation on amino acids and vitamins
in haddock fillets. Food Technol. 20: 97, 117 .
- Buttiaux, R. et Morianez, J., 1955. Lactobacilles des jambons. Annales de
l'Institut Pasteur de Lille 6: 158 .
- Difco, Manual, 1963. Microbiological Assay of Vitamins and Amino acids,
p. 247 .
- Drake, S.D., Evans, J.B. and Niven, Jr. C.F., 1958. Microbial flora of
packaged frankfurters and their radiation resistance. Food Research
23: 291 .
- Drake, S.D., Evans, J.B. and Niven, Jr. C.F., 1960. The effect of heat
and irradiation on the microflora of canned ham. Food Research 25:
270 .
- Dupuy, P. et Trémeau, O., 1963. Influence des conditions de culture sur la
résistance aux radiations de quelques Lactobacillus. Ann. Nutrit.
et Aliment. 17: B 427 .
- Evans, J.B. and Batzer. D.F., 1960. Irradiation in The Science of Meat
and Meat Products, p. 305. W.H. Freeman 2 Co. San Francisco.
- Ford, J.E., 1953. The microbiological assay of vitamin B₁₂ . The specifi-
city of the requirement of Ochromonas malhamensis for cyanocobalamin.
Brit. J. Nutrit. 7: 299 .

- Jukes, T.H., Williams, W.L., 1954. Estimation of vitamin B₁₂ . The Vitamins Vol. I ed. Sebrell, Jr. W.H. and Harris, R.S., Academic Press, N.Y..
- Markakis, P.C., Goldblith, S.A. and Proctor, B.E., 1951. Effect of ionizing radiations on vitamin B₁₂ . Nucleonics 9; 71 .
- Matches, J.R. and Liston, J., 1968. Growth of Salmonellae on irradiated and non irradiated sea-foods. J. Food Sci. 33: 406 .
- Sharpe, E., 1962. Taxonomy of the Lactobacilli. Dairy Science Abstracts.
- Simard, C., Lachance, R.A. et Moreau, J.R., 1973. Traitement des viandes par irradiation I. Effet de doses de pasteurisation sur les salmonelles, staphylocoques et streptocoques. Soumis pour publication, Can. Inst. Food Technol. J.
- Solberg, M., 1967. Microbial considerations of packaging. Food Technol. 21: 758-9 .
- Thornley, N.J., 1963. Microbiological aspects of the use of radiation for the elimination of Salmonellae from foods and feeding stuffs. Radiation control of the Salmonellae in food and feed products Techn. Report Série No 22 I.A.E.A. Vienna, p. 81 .
- Wanatabe, W., Tape N.W. and Larmond, E., 1969. Gamma irradiation of commercial and microwave processed wieners. Can. Inst. Food Technol. J. 2(4): 181 .

RESUME

L'on a irradié au moyen de Cobalt-60 de la viande de boeuf hachée fraîche emballée en plastique perméable à l'oxygène et des saucisses fumées emballées sous vide en plastique imperméable à l'oxygène. Dans ces conditions la vitamine B₁₂ dans la viande de boeuf hachée fraîche et dans la viande saumurée n'est que très peu affectée par l'irradiation même à de fortes doses (4.0 Mrads). Une dose d'irradiation de 384 Krads est plus que suffisante pour inactiver (6 x D₁₀) Lactobacillus viridescens sur saucisses fumées emballées sous vide.

ABSTRACT

Raw ground beef wrapped in oxygen-permeable plastic film and wieners packaged under vacuum in oxygen-unpermeable plastic film were irradiated with Cobalt-60. Under those conditions vitamin B₁₂ in raw ground beef and in cured meat is very slightly affected by irradiation, even at heavy doses (4.0 Mrads). An irradiation dose of 384 Krads is quite sufficient to inactivate Lactobacillus viridescens on vacuum packaged wieners.

Behandlung von Fleisch durch Bestrahlung II
Einwirkung auf Vitamin B₁₂ und Laktobazillen*

Moreau J.R., Simard C. und Lachance R.A.

Universität Laval, Québec, Canada, G1K 7P4

Zusammenfassung

Rohes Hackfleisch in oxygendurchlässige Plastikfolie gewickelt und Wiener Würstchen in oxygenundurchlässiger Plastikfolie vakuumverpackt, wurden mit Kobalt 60 bestrahlt. Unter diesen Bedingungen war die Einwirkung der Bestrahlung auf das Vitamin B₁₂ sehr geringfügig, selbst bei starker Bestrahlung von 4.0 Mrad. Eine Bestrahlung von 384 Krad genügt um den Lactobacillus viridescens in vakuumverpackten Wiener Würstchen unschädlich zu machen (6 x D₁₀).

* Ein von der Atomic Energy of Canada Ltd. gefördertes Projekt.

Излучение мяса. II. Влияние на витамин B₁₂ и
лактобациллы*

Моро, Ж.Р., Симар, С., Лашанс, Р.А.

Универзитет Лавал, Квебек, Канада, G1K 7P4

Резюме

Излучено кобальтом 60 свежий говядинный фарш упакованный в пластиковой пленке пропускающей кислород и копченые сосиски в вакуумной упаковке из пластиковой пленки не пропускающей кислород. В этих условиях, свежая а также копченая говядина не дознает почти никакого изменения после излучения даже высокими дозами (4.0 Mrad). Доза излучения в 384 Крад более чем достаточна для инактивации Lactobacillus viridescens на копченых сосисках в вакуумной упаковке.

* Проект поддержан Комиссией по атомной энергии Канады