

Metmyoglobin - Reduktionsaktivität im Muskel

RENERRE M.

Station de Recherches sur la Viande INRA THEIX 63110 BEAUMONT

Die Reduktionskapazität von Metmyoglobin wurde an trüben Lösungen der Muskelhomogenaten unter aeroben Bedingungen spektrofotometrisch gemessen.

Die Reduktion des Farbstoffes benötigt NADH und Metylenblau.

Es konnten Unterschiede an den Anfangsgeschwindigkeiten der Metmyoglobinreduktion im Long.dorsi Muskel von Rind, Schaf und Schwein festgestellt werden.

Rind Long.dorsi und Psoas Muskeln sind auch mit verschiedenen Reduktionskapazität von Metmyoglobin und Kühlagerdauer des Fleisches wird diskutiert.

Metmyoglobin reducing activity in muscle

RENERRE M.

Station de Recherches sur la Viande I.N.R.A. THEIX 63110 BEAUMONT

The Metmyoglobin reducing activity was measured by spectrophotometry in turbid medium, from whole muscle homogenates in aerobic conditions. The pigment reduction requires the use of NADH and methylen blue.

We show differences in reduction initial speeds of Metmyoglobin between the muscle Longissimus Dorsi of beefs, sheeps and pigs. Differences in reducing capacity are also noted between Longissimus dorsi and Psoas muscles of beef .

The relation between metmyoglobin reducing activity and the shelf-live of meat is discussed.

E 15:2

Activité réductrice de la metmyoglobine dans le muscle

RENERRE M.

Station de Recherches sur la Viande - I.N.R.A. THEIX 63110 BEAUMONT FRANCE

La capacité réductrice de la Metmyoglobine a été mesurée par spectrophotométrie en milieux troubles, à partir d'homogénats de muscles entiers, en condition aérobie.

La réduction du pigment nécessite l'emploi de NADH et de bleu de méthylène.

On met en évidence des différences de vitesse initiale de réduction de la Metmyoglobine entre les muscles longs dorsaux de bovins, ovins et porcins. Des différences de capacité réductrice sont aussi enregistrées entre le muscle Long Dorsal et le muscle Psoas chez le boeuf.

La relation entre la capacité réductrice de la Metmyoglobine et la durée de conservation de la viande à l'état réfrigéré est discutée.

ACTIVITES REDUCTRICES SUR LA METMYOGLOBINE DANS LA VIANDE

MICHEL RENERRE

I.N.R.A. - THEIX
63110 BEAUMONT - FRANCEINTRODUCTION

- Dans la viande, le pigment existe en équilibre sous trois formes : myoglobine réduite (rouge pourpre), oxymyoglobine (rouge vif) et metmyoglobine (brune). Au cours de la conservation l'état chimique du pigment dépend : de son oxygénation, de l'oxydation qui est elle même fonction de facteurs physico-chimiques comme le pH, la température, la pression d'oxygène et de facteurs biochimiques telles que les activités enzymatiques susceptibles de réduire la metmyoglobine.

- Un des buts principaux du technologue est de retarder l'apparition de la forme oxydée du pigment (metmyoglobine) en surface de la viande au profit de la forme oxygénée qui donne à la viande sa couleur rouge vif attrayante. L'importance de la couche d'oxymyoglobine en surface dépend principalement de la consommation d'oxygène par les mitochondries musculaires et de la capacité d'oxydo-réduction du pigment.

- De la même façon que cela a été mis en évidence "in vivo", il existe des systèmes enzymatiques catalysant la réduction de la metmyoglobine dans la viande. Depuis les nombreux travaux comme ceux en particulier, de STEWARD et al. (1965), SALEH et WATTS (1968), on sait que ces systèmes enzymatiques font intervenir des coenzymes pyridiniques (NADH) et des intermédiaires comme les quinones. Aujourd'hui, il n'existe pratiquement aucune méthode pour mesurer l'intensité du phénomène (GIDDINGS, 1974). Si pour STEWARD et al., (1965) la réduction ne peut se faire qu'en milieu anaérobie (Metmyoglobin Reducing Activity), pour LEDWARD (1972) les activités réductrices fonctionnent en milieu aérobie (Aerobic Reducing Activity).

- Afin d'expliquer les mécanismes de stabilité de la couleur de la viande conservée au froid, sous atmosphère normale, nous avons mis en oeuvre une méthode originale pour mesurer la réduction du pigment à partir d'homogénats musculaires en conditions aérobies. Parallèlement à cette mesure nous avons apprécié la quantité de mitochondries et la consommation d'oxygène de la viande.

- Ces expérimentations ont été effectuées dans le Laboratoire du Docteur K.S. CHEAH, au Meat Research Institute de LANGFORD (Grande Bretagne).

MATERIEL ET METHODESMatériel

Aussitôt après l'abattage de l'animal, 100 g de muscle long dorsal ont été prélevés sur des carcasses de boeuf de porc et de mouton ainsi qu'un échantillon de muscle Psoas de boeuf. La conservation de la viande se fait à une température voisine de 0°C.

Méthodes- Activités réductrices sur la metmyoglobine

5 g de muscle sont hâchés finement aux ciseaux dans du tampon phosphate de sodium 50 mM pH 7,0 à 0- + 1°C. Après homogénéisation au Potter, le volume final est d'environ 25 ml. On ajoute à l'homogénat de viande 0,1 ml de bleu de méthylène (60 µM) 0,1 ml de myoglobine oxydée commerciale (15 mM) (SHIMIZU et MATSUURA), ainsi que 10 mg de NADH dans la cuve de mesure. La réduction enzymatique du pigment est suivie grâce à l'apparition d'un pic d'absorption à 582 nm par spectrophotométrie en milieux turbides, à température ambiante.

- Quantité de cytochromes aa₃

5 g de muscle sont hâchés finement aux ciseaux dans quelques cm³ de KCl 150 mM à 0- + 1°C. Après homogénéisation au Potter, on centrifuge à 10 000 g pendant 10 minutes à + 4°C. Le résidu est récupéré, lavé avec du KCl 150 mM, homogénéisé et centrifugé. Après centrifugation le résidu est homogénéisé dans du tampon phosphate de sodium 50 mM pH 7,0 et le volume final est ajusté à 25 ml. Par la technique du spectre de différence entre l'état réduit et l'état oxydé, on dose la quantité de cytochromes aa₃ à partir de cet homogénat à la longueur d'onde de 601 nm, à l'aide du spectrophotomètre Aminco-Chance (CHEAH, 1971).

- Consommation d'oxygène

A partir de 4 ml de l'homogénat musculaire préparé précédemment dilué dans un même volume de tampon phosphate de sodium pH 7,0 50 mM, on mesure la consommation d'oxygène à l'aide d'une électrode de Clark, à 35°C. Pour suivre la respiration, on utilise le succinate 1 M dissous dans un milieu réactionnel décrit par CHEAH K.S. (1971).

- Dosage des protéines

On dose les protéines par la méthode du Biuret.

E 15:4

RESULTATS ET DISCUSSION

- Activités réductrices sur la metmyoglobine

On mesure la réduction du pigment musculaire à 582 nm, longueur d'onde qui correspond au pic d'absorption maximum de la myoglobine réduite qui s'oxygène à l'air. Les vitesses initiales de réduction du pigment sont rapportées dans le tableau 1.

$\Delta DO_{582}/\text{min.}/\text{mgP} (x 10^4)$	Boeuf		Porc	Mouton
	LD	PS	LD	LD
	20,3	6,1	3,6	0,24

Tableau 1 : Vitesses initiales de réduction du pigment

Table 1 : Initial velocities of pigment reduction

Il apparaît des différences très nettes entre espèces, la viande de bovin ayant la capacité de réduction du pigment la plus importante. Ces résultats sont à comparer aux observations réalisées dans la pratique qui montrent que la couleur de la viande de bovin est plus stable que celle du mouton. Nos résultats ne corroborent pas ceux d'ATKINSON et FOLLETT (1973) qui mesuraient l'activité réductrice de la viande par la méthode de STEWARD et al. (1965), en conditions anaérobies, à l'aide de ferricyanure de potassium.

Par ailleurs nous constatons que le muscle long dorsal chez le bovin a une capacité réductrice du pigment bien supérieure à celle du muscle Psoas. Ces différences observées entre muscles sont à rapprocher des résultats de HOOD (1971) qui avait mesuré l'apparition de myoglobine oxydée en surface de la viande à l'aide d'une méthode proche de celle décrite par STEWARD et al. (1965). De la même façon que LEDWARD (1972), qui avait apprécié par réflectométrie en conditions aérobies l'apparition du pigment oxydé en surface de la viande (A.R.A.), nous pensons que les phénomènes de réduction sur la metmyoglobine doivent jouer un rôle dans la conservation sous atmosphère normale, du pigment oxygéné de la viande.

- Capacité de respiration dans la viande

La quantité de cytochromes varie, pour un muscle donné en fonction de l'espèce animale et, dans une espèce donnée, en fonction du type métabolique du muscle (tableau 2).

Les mesures de consommation d'oxygène indiquent des différences entre muscles d'espèces différentes, le muscle de mouton ayant la consommation d'oxygène la plus importante. (tableau 2). Ce classement entre espèces est identique à celui observé par ATKINSON et FOLLETT (1973) obtenu à partir de muscles Demi-membraneux et mesuré à l'aide de la méthode au Warburg.

Il est intéressant de noter que si l'on ramène la consommation d'oxygène à la teneur en cytochromes aa_3 correspondante, le classement entre espèces est identique à celui de la stabilité de la couleur de la viande : boeuf > Porc > Mouton (Tableau 2).

	BOEUF		PORC	MOUTON
	LD	Psoas	LD	LD
Consommation O_2 nmoles $O_2/\text{min}/\text{g.V.}$ (1)	162	150	80	197
Quantité aa_3 nmoles/g.V. (2)	5	3,4	2,2	11
(1)/(2)	32,4	44,1	36,3	17,9

Tableau 2 : Consommation d'oxygène et quantité de cytochrome aa_3 des muscles

Table 2 : Oxygen consumption and amount of cytochrome aa_3 of muscles

Nos résultats sont en bon accord avec les observations de BENDALL J.R. et TAYLOR A.A. (1972) qui pensent que les différences de consommation d'oxygène entre muscles sont dues à des variations dans l'équipement mitochondrial. Le classement observé entre espèces va dans le même sens que la stabilité de la couleur de la viande; la capacité de respiration du muscle doit jouer un rôle dans la formation de la couche d'oxymyoglobine en surface de la viande.

CONCLUSION

- L'accumulation de metmyoglobine en surface de la viande est vraisemblablement due à l'interaction de plusieurs phénomènes d'oxydo-réduction du pigment. Il est très difficile d'étudier séparément les réactions du fait, en particulier, que les facteurs physico-chimiques comme le pH, la température, la pression d'oxygène... peuvent agir de la même façon et en même temps sur l'autoxydation et les mécanismes de réduction du pigment. Ceci explique que pourquoi, actuellement, on possède très peu de données sur le moyen de mesurer les mécanismes de réduction et sur la signification des résultats obtenus. Afin d'apporter des éléments nouveaux dans la compréhension des mécanismes qui favorisent la conservation de la viande réfrigérée conservée à l'air, nous poursuivons nos expérimentations à partir d'homogénats musculaires sur un lot plus important d'animaux. La conclusion rapportée par GIDDINGS (1974) est toujours valable. "Un travail expérimental plus important est nécessaire si l'on veut connaître l'importance relative de la réduction et de l'autoxydation comme cause de l'accumulation du pigment oxydé dans la viande fraîche".

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ATKINSON J.L., FOLLETT M.J., 1971 Biochemical studies on the discoloration of fresh meat. 17th European Meeting of Meat Research Workers - BRISTOL, 685-691.
- BENDALL J.R., TAYLOR A.A., 1972 Consumption of oxygen by the muscles of beef animals and related species II - Consumption of oxygen by post rigor muscle. J. Sci. Fd Agric., 23, 707-719
- CHEAH K.S., 1971 Effect of loss of cytochrome C following storage of mitochondria in situ - F.E.B.S. LETTERS, 19, 105-108.
- HOOD D.E., 1971 Factors affecting the accumulation of metmyoglobin in prepackaged beef. 17th European Meeting of Meat Research Workers - BRISTOL, 677-684.
- LEDWARD D.A., 1972 Metmyoglobin reduction and formation in beef during aerobic storage at 1°C. J. Food Sci., 37, 634.
- SALEH B.A.H., WATTS B.M., 1968 Substrates and intermediates in the enzymatic reduction of metmyoglobin in ground beef. J. Food Sci., 33, 353.
- SHIMIZU C., MATSUURA F., 1971 Occurrence of a new enzyme reducing metmyoglobin in Dolphin muscle. Agri. Biol. Chem. 35(4), 468-475
- STEWART M.R., HUTCHINS B.K., ZIPSER M.W. et WATTS B.M., 1965 Enzymatic reduction of metmyoglobin by ground beef. J. Food Sci., 30(3). 487-491.