



Qualité de la viande et tissu conjonctif : existe-t-il une relation ?

Bruno BOUTTEN (CTSCCV)

RESUME

La qualité de la matière première viande est un sujet de recherche permanente des industriels de la transformation des viandes. Actuellement, le pH et la couleur sont les critères de qualité retenus par les entreprises d'abattage et de transformation, les marqueurs génétiques étant utilisés au niveau de la sélection. Le marqueur mis en avant dans cette publication est un marqueur du tissu conjonctif peu souvent étudié mais capital quant à la structuration du muscle. Il s'agit des molécules de pyridinolines, molécules thermostables participant au pontage entre les molécules de collagène. Les premières études présentées ici montrent le caractère pertinent de ce marqueur vis-à-vis des vitesses de croissance de l'animal et une relation entre ce marqueur et le rendement technologique du jambon cuit.

INTRODUCTION

La qualité d'un produit est l'ensemble des caractéristiques permettant de satisfaire les besoins, exprimés ou potentiels, des utilisateurs. En ce qui concerne la viande on peut distinguer quatre catégories :

- qualité hygiénique,
- qualité nutritionnelle,
- qualité organoleptique,
- qualité technologique.

L'objet de cet article est la qualité technologique. La qualité technologique d'une viande est complexe, elle résulte de l'effort des différents intervenants de la filière : le sélectionneur, l'éleveur, le transporteur, l'abatteur et le salaisonier. On peut donc distinguer trois contributions à la qualité technologique de la viande :

- celle apportée par le sélectionneur et l'éleveur au cours de la croissance de l'animal,
- celle apportée par l'éleveur, le transporteur et l'abatteur durant les jours charnières qui entourent l'abattage de l'animal,
- celle apportée par le transformateur, charcutier ou salaisonier.

L'objet de cette recherche a été de trouver un indice de qualité de la viande indépendant des conditions de pré- et post-abattage, lié à l'animal et à sa croissance et dépendant du tissu conjonctif.

Les principaux travaux de recherche ont privilégié l'étude du mécanisme de la glycogénolyse notamment chez les animaux RN⁺, RN⁻, homo- et hétérozygotes. Les cinétiques de dénaturation et de gélification des extraits

myofibrillaires ont également été étudiées, en relation notamment avec le refroidissement et la vitesse de chute du pH ou avec le chauffage et la vitesse de chauffage (Monin, 1998). Tout au long de ces recherches, le rôle du tissu conjonctif a été peu approfondi et ceci malgré le rôle fondamental de ce tissu dans la structure du muscle, et particulièrement dans la cohésion des myofibrilles.

L'étude du tissu conjonctif que nous avons menée depuis quatre ans a porté sur la relation collagène / tenue de tranche / rendement technologique ainsi que sur la recherche d'un marqueur de qualité de la viande présent dans le tissu conjonctif. Cette recherche a mis en évidence un marqueur à forte potentialité : les pyridinolines, molécules de pontage du collagène.

Les pyridinolines sont étudiées en médecine humaine comme marqueurs de l'ostéoporose. Elles traduisent l'évolution du métabolisme osseux par l'intermédiaire de l'évolution de leur principal constituant, le collagène.

Ce collagène présent dans l'os est comparable à celui présent dans le muscle. C'est ce qui nous a incités à étudier ces marqueurs.

Avant de parler des pyridinolines, il est utile de décrire le tissu conjonctif et le rôle de ces molécules dans ce dernier.

LE TISSU CONJONCTIF

L'organisation structurale du muscle est dictée par celle de son tissu conjonctif, dont le constituant majeur (50 à 80 % du poids sec) est le collagène.

Le tissu conjonctif s'organise en trois niveaux (figure 1) :

- l'épimysium (enveloppe la face externe du muscle),
- le périmysium (enveloppe les faisceaux de fibres musculaires),
- l'endomysium (mince couche de la matrice extra cellulaire).

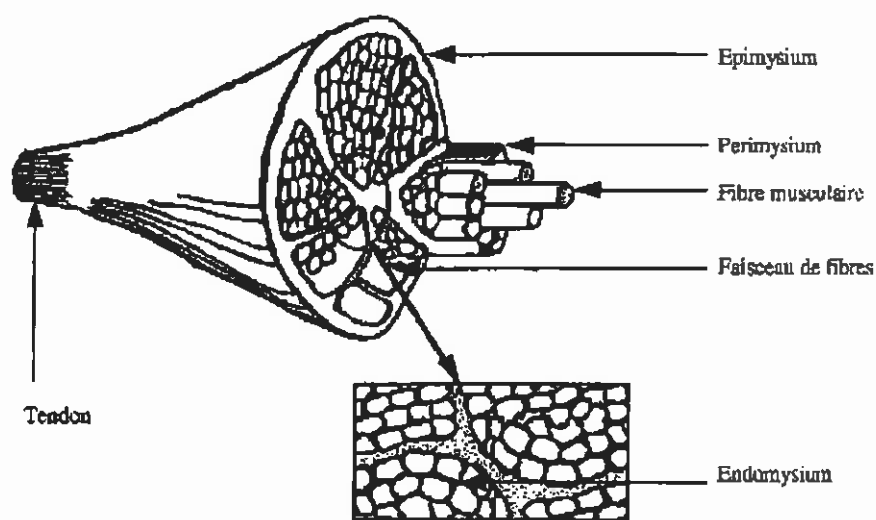


Figure 1 : schéma d'une section transversale d'un muscle squelettique et d'un faisceau de fibres (Light, 1987).

Les principales fonctions physiologiques du tissu conjonctif intramusculaire sont :

- assurer la cohésion du muscle et son adhésion aux autres tissus,
- maintenir la lubrification des surfaces entre les fibres et les faisceaux de fibres musculaires et ainsi, accommoder le muscle aux déformations qui lui sont imposées,
- permettre l'alignement des fibres musculaires, des nerfs et des veines et assurer la transmission de la force développée à l'ensemble du muscle, puis au squelette.

Le collagène représente 25 à 80 % du poids sec du tissu conjonctif intramusculaire et lui confère ses propriétés mécaniques, sa stabilité thermique et sa résistance à la plupart des enzymes protéolytiques. Ces propriétés découlent de la structure primaire même du collagène qui facilite la conformation en triple hélice, et qui permet l'établissement de liaisons inter- et intramoléculaires.

La structure du collagène

Le collagène constitue une famille de protéines comportant au moins 17 types de collagènes distincts codés par une trentaine de gènes. La caractéristique commune des collagènes est la présence d'un ou plusieurs domaines moléculaires présentant une triple hélice caractéristique. La triple hélice caractéristique de la famille des collagènes est formée par l'enroulement en torsade de trois chaînes polypeptidiques (chaînes α).

La famille des collagènes comporte deux groupes : les collagènes fibrillaires (I, II, III, V et XI) (figure 2) et les collagènes non-fibrillaires (IV, VI, VII, VIII, IX, X, XII, etc.). Les collagènes nous intéressant principalement pour le muscle sont ceux de types I, III, IV. Le collagène de type I est le constituant fibrillaire majeur. C'est un hétérotrimère comportant deux chaînes $\alpha 1(I)$ homologues et distinctes de la troisième chaîne $\alpha 2(I)$, soit : $[\alpha 1(I)]_2, \alpha 2(I)$. En revanche les collagènes de types III et IV sont des homotrimères de formules respectives $[\alpha(III)]_3$ et $[\alpha(IV)]_3$.



Figure 2 : structure du collagène fibrillaire types I et III.

Le collagène I est le constituant majeur de l'épimysium et du pérимysium, le type III étant dans le pérимysium et l'endomysium. Le type IV, quant à lui, n'existerait qu'au niveau de l'endomysium.

La chaîne polypeptidique caractéristique de la famille des collagènes comprend une séquence répétitive de 3 acides aminés (Gly-Xaa-Yaa)_n, où Xaa et Yaa sont fréquemment la proline et l'hydroxyproline, respectivement. La glycine (Gly) est toujours localisée au milieu de l'hélice. Sa présence à cet endroit est indispensable à la stabilité des structures primaire (chaîne α) et secondaire (triple hélice). Ainsi, pour la plupart des collagènes, la glycine représente le tiers des acides aminés totaux, la proline et l'hydroxyproline interviennent dans des proportions variables (de 10 à 17 %) selon le type de collagène. Enfin, les acides aminés tyrosine, histidine et cystéine n'interviennent qu'en faible proportion (1 %), le tryptophane étant pratiquement absent.

Une molécule de collagène est une triple hélice stable de 1,4 nm de diamètre, 300 nm de longueur et de poids moléculaire 300 kD. Au niveau des parties amino- et carboxyterminales, la molécule de collagène perd son hélicité (la glycine n'est plus présente tous les 3 acides aminés). Ces séquences comportent, en revanche, un plus grand nombre de lysines. Celles-ci jouent un rôle déterminant dans le processus de formation des liaisons intermoléculaires.

La réticulation du collagène et le rôle des pyridinolines

De par sa conformation moléculaire en triple hélice, la structure du collagène est stabilisée grâce aux multiples possibilités d'établissement de liaisons latérales, dites de maturation (figure 3).

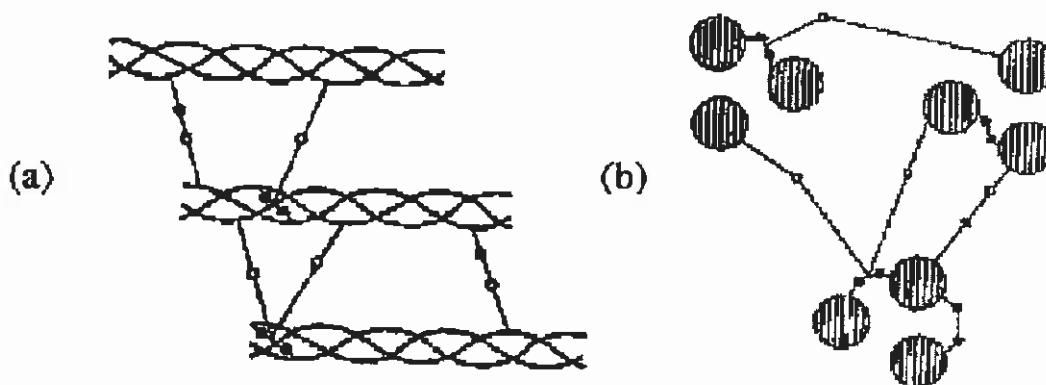


Figure 3 : localisation des liaisons intermoléculaires du collagène ; (a) vue latérale, (b) vue en coupe transversale (Tanzer, 1973).

Le processus de formation des liaisons inter-moléculaires peut intervenir selon 2 voies : enzymatique et non-enzymatique. Les mécanismes mis en jeu au cours de ce processus ont été revus par plusieurs auteurs (Eyre, 1980 ; Eyre *et al.*, 1984 ; Ricard-Blum *et al.*, 1989 ; Last *et al.*, 1990 ; Reiser *et al.*, 1992). Seule la voie de synthèse enzymatique, plus importante, a été l'objet de notre attention.

Les principales liaisons non-réductibles sont la pyridinoline (PYR) et la déoxypyridinoline (DPYR) (figure 4). Les liaisons pyridiniums ont été extraites à partir de collagène de tendon (Fujimoto *et al.*, 1977), de tissu conjonctif intramusculaire de chèvres (Horgan, 1991), de bovins (Kuypers *et al.*, 1994 ; Bosselmann *et al.*, 1995), de moutons (Young *et al.*, 1994) et de porcs (Avery *et al.*, 1996).

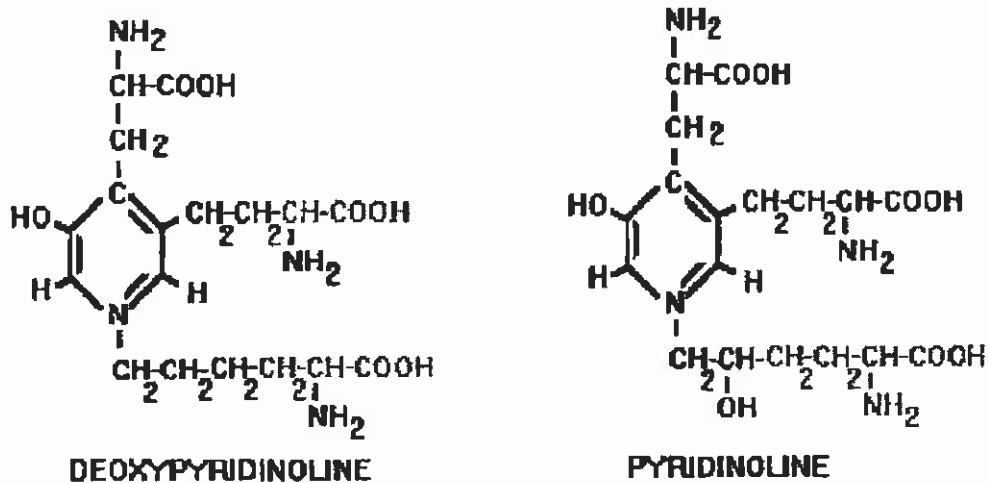


Figure 4 : structure des liaisons pyridiniums (Eyre, 1987).

Les structures primaire et secondaire du collagène, ainsi que son aptitude à former des liaisons inter- et intramoléculaires confèrent au tissu conjonctif sa résistance à l'attaque des enzymes protéolytiques non spécifiques et sa stabilité thermique. Cette maturation du tissu conjonctif est réalisée durant toute la vie de l'animal et est conditionnée par sa génétique et les conditions de son élevage.

LA COMPLEXITE DES RELATIONS

L'interrelation entre tissu conjonctif et fibre musculaire est considérable ; elle est symbolisée par les relations entre le collagène soluble de type I et le rendement technologique (Boutten *et al.*, 1998). Elle peut être synthétisée par la figure 5.

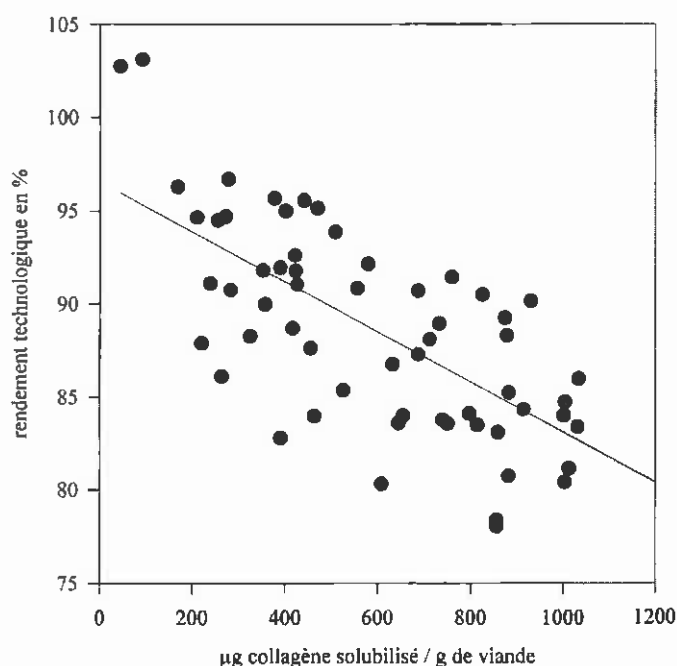


Figure 5 : évolution du rendement technologique en pourcentage en fonction de la concentration du collagène soluble de type I par gramme de viande.

Au travers de cette relation ($r = 0,76$; $n = 64$), on peut se demander quel est l'élément étudié :

- la fibre musculaire ou le tissu conjonctif ?
- les conditions de pré- et post-abattage ou le tissu conjonctif ?

La réponse à cette question est complexe. C'est sans doute l'ensemble des facteurs qui intervient. En effet, les facteurs muscle et pH 24 ont une influence importante sur le collagène soluble de type I. Ceci peut s'expliquer par l'état d'hydratation du tissu conjonctif, état d'hydratation qui est conditionné par le départ de l'eau du compartiment intra-cellulaire vers le compartiment extra-cellulaire. Cette eau présente dans le compartiment extra-cellulaire permet une meilleure solubilisation du tissu conjonctif (Burjanadze, 1992), solubilisation qui viendra renforcer la déstructuration de la viande.

Donc en étudiant l'évolution du principal constituant du tissu conjonctif qu'est le collagène de type I, on étudie en réalité les conséquences de multiples interactions zootechniques et technologiques.

C'est pour se dégager de ces interactions que nous avons recherché un marqueur indépendant des conditions d'abattage et représentatif du tissu conjonctif. Les candidats idéaux étaient les pyridinolines, molécules de pontages (*cross-links*) traduisant un état de maturation du collagène et thermostables.

Une première étape a été d'observer l'évolution de ce marqueur en fonction de l'âge et du poids des animaux. Ainsi, sur les animaux femelles de même lignée génétique Pi x LW (F1) mais d'âge et de poids différents, on a mesuré le rapport pyridinolines par mg de collagène sur le demi-membraneux (Boutten *et al.*, 1997) (figure 6).

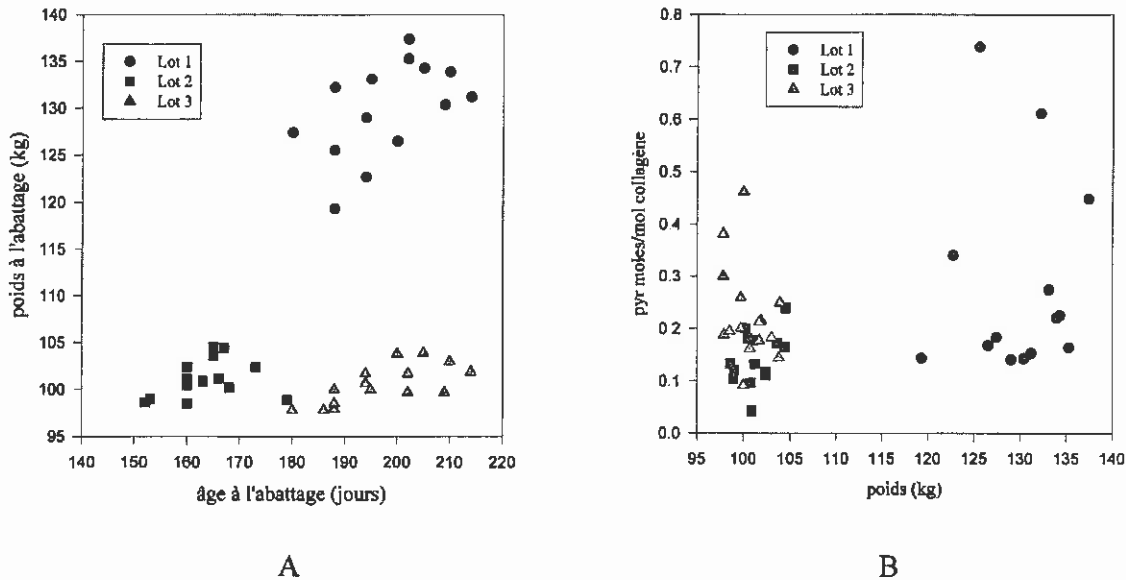


Figure 6 : A, répartition âge / poids des cochons femelles Pi x LW (F1) ; B, répartition du rapport mole de pyridinoline / mole de collagène en fonction du poids des porcs à l'abattage.

Cette étude a confirmé que les animaux ayant subi une alimentation comparable mais abattus à des âges différents (lots 1 et 2) présentaient des concentrations en pyridinolines significativement différentes. Elle a également confirmé que les animaux abattus à même poids mais d'âges différents (lots 2 et 3) présentaient des concentrations en pyridinolines significativement différentes, à savoir que les animaux les plus âgés avaient des concentrations plus élevées.

De plus, elle a montré que deux lots de porcs d'âges identiques à l'abattage mais de poids différents (lots 1 et 3) présentaient des différences de concentration en *cross-links*, c'est-à-dire que les animaux de plus faible poids avaient une concentration plus faible que les animaux de poids élevé.

Devant ces résultats, l'étude des *cross-links* fut poursuivie en observant l'influence de facteurs zootechniques sur ce marqueur (tableau 1).

	pH ₂₄			lignée génétique mâle			âge en jours			muscle		
	<5,6 n = 40	>5,7 n = 38	p	LW*P n = 40	P76 n = 38	p	160 n = 38	190 n = 40	p	Semi Membranosus n = 39	Biceps Femoris n = 39	p
% humidité	73,77 ± 6,08	74,91 ± 0,57	NS	74,72 ± 0,62	73,97 ± 6,11	NS	74,91 ± 0,60	73,83 ± 5,93	NS	73.85 ± 6.00	74.85 ± 0.71	NS
% collagène total	0,37 ± 0,19	0,38 ± 0,20	NS	0,36 ± 0,17	0,39 ± 0,22	NS	0,38 ± 0,17	0,38 ± 0,22	NS	0.26 ± 0.08	0.50 ± 0.21	***
mole pyridinoline / mole collagène (EIA)	0,54 ± 0,21	0,51 ± 0,21	NS	0,54 ± 0,24	0,52 ± 0,18	NS	0,50 ± 0,20	0,55 ± 0,22	NS	0.65 ± 0.16	0.40 ± 0.18	***
mole PYR / mole collagène	0,46 ± 0,18	0,40 ± 0,17	NS	0,44 ± 0,19	0,41 ± 0,16	NS	0,41 ± 0,16	0,44 ± 0,18	NS	0.49 ± 0.16	0.37 ± 0.16	***
mole DPYR / mole collagène	0,017 ± 0,009	0,013 ± 0,008	*	0,018 ± 0,01	0,011 ± 0,004	***	0,014 ± 0,009	0,015 ± 0,007	NS	0,017 ± 0,009	0,012 ± 0,006	**

Tableau 1 : effet des facteurs zootechniques sur l'humidité, le pourcentage de collagène total, les pyridinolines totales, pyridinoline, déoxyypyridinoline (moyenne ± déviation standard ; p = seuil de significativité ; NS = non significatif ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; * p < 0,001).**

Le pH est influencé par la concentration en déoxyypyridinoline ($p < 0,05$). Ce résultat étonnant doit être confirmé par des expériences complémentaires. Les concentrations en pyridinolines sont influencées par la lignée génétique ($p < 0,001$). Le facteur muscle influence la concentration en collagène total, la concentration en pyridinoline et déoxyypyridinoline. Le facteur âge à l'abattage n'a pas été retrouvé comme apportant une différence significative entre les différentes pyridinolines. Les moyennes observées évoluent dans le même sens que les résultats obtenus lors des premières manipulations, c'est à dire que les animaux les plus âgés ont plus de pyridinoline que les animaux les plus jeunes. Avec les différents muscles, des micro-fabrications de jambon ont été réalisées comme

expliqué dans les publications de Boutten *et al.* (1998 et 2000). La relation entre rendement technologique et collagène soluble d'une part et rendement technologique et concentration en pyridinoline d'autre part a été étudiée pour le demi-membraneux en utilisant un pourcentage de sel nitrité de 1,5 % et une classe de pH 24 inférieure à 5,55. Ces relations sont représentées figure 7.

Les relations entre collagène soluble et rendement technologique d'une part et pyridinoline et rendement technologique d'autre part ont des coefficients de corrélation respectivement de 0,91 et 0,69 et les liaisons ont une significativité ($p < 0,01$). Dans les fabrications de jambons, les pyridinolines montrent une relation avec le rendement technologique.

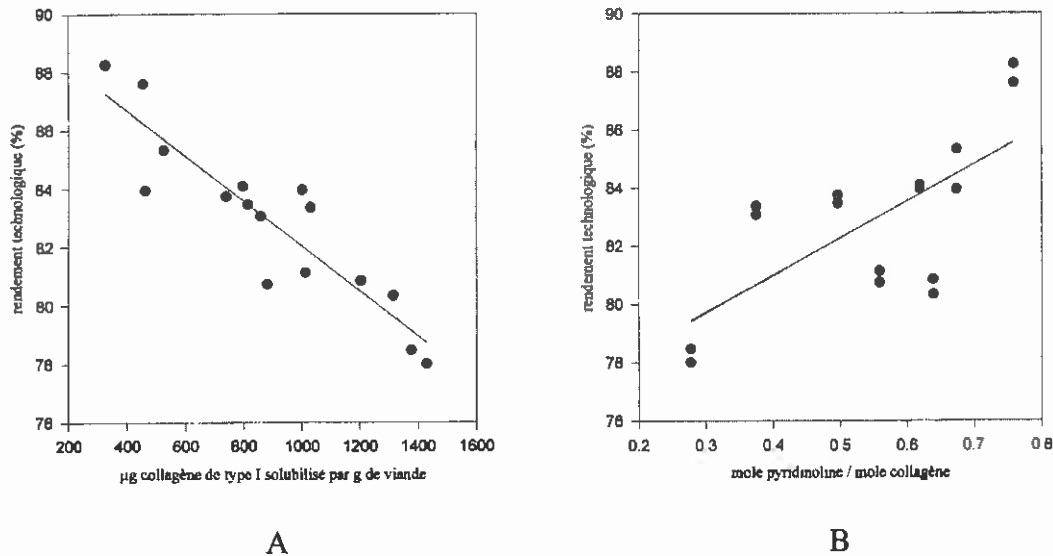


Figure 7 : relation entre collagène de type I solubilisé (A) et le rapport mole pyridinoline / mole de collagène vis-à-vis du rendement technologique (n=16).

QUEL EST L'INTERET D'UNE TELLE ETUDE ?

La recherche de marqueurs de la qualité de la viande est une préoccupation constante des industriels.

Le pH apporte des solutions au niveau du terrain par son étroite relation avec les conditions d'abattage et son aspect prédictif tant pour le rendement technologique que pour l'aspect couleur.

La génétique apporte des solutions pour l'amélioration de la sélection des lignées. C'est dans cette démarche que s'inscrivent les pyridinolines, des marqueurs permettant l'amélioration de la sélection, marqueurs traduisant les qualités du tissu conjonctif, « ossature » du muscle, et non les caractéristiques des fibres musculaires.

Les pyridinolines sont des molécules de pontage du collagène thermostable, c'est-à-dire qu'elles conditionnent le comportement du collagène, donc du tissu conjonctif, au chauffage. Ces molécules sont indépendantes des conditions d'abattage, elles se forment tout au long de la croissance de l'animal, c'est-à-dire qu'elles sont dépendantes de la génétique, de l'alimentation et de la croissance de l'animal.

Vu l'importance du tissu conjonctif pour les produits de charcuterie, le CTSCCV développe une technique rapide et sensible de dosage de ces molécules. Celle-ci lui permettra une caractérisation non seulement quantitative du tissu conjonctif mais également qualitative.

Si ces résultats préliminaires étaient confirmés, les pyridinolines pourraient donc constituer un marqueur de sélection génétique et d'amélioration de la croissance des animaux.

BIBLIOGRAPHIE

- Avery N.C., Sims T.J., Warkup C., Bailey A.J. Collagen cross-linking in porcine M. longissimus lumborum : absence of a relationship with variation in texture at pork weight. *Meat Science*. 1996: 42: 355.
- Bosselmann A., Möller C., Steinhart H., Kiercheggessner M., Schwarz F.J. Pyridinoline cross-links in bovine muscle collagen. *Journal of Food Science*. 1995: 60: 953.
- Boutten B., Braud O., Calvert R., Bonneau M., Vendevre J.L. Caractérisation du collagène du semi-membraneux en fonction de l'âge et du poids à l'abattage chez des porcs par immunodosage des pyridinolines. *Viandes et produits carnés*. 1997: 18: 2: 103.
- Boutten B., Muctor G., Ripoché A., Vendevre J.L. Le collagène soluble pour prédire le rendement technologique. *Viandes et produits carnés*. 1998: 19: 2: 93.
- Boutten B., Ripoché A., Vendevre J.L. Un test rhéologique simple pour comprendre le rendement technologique. *Viandes et produits carnés*. 1998: 19: 5: 211.
- Boutten B., Brazier M., Morche N., Vendevre J.L. Influence of zootechnical factors on collagen characteristics and consequence on ham process. *Meat Science*. 2000: 55: 233.
- Burjanadze T.V. Thermodynamic substantiation of water-bridged collagen structure. *Biopolymers*. 1992: 32: 941.
- Eyre D.R. Collagen: Molecular diversity in the body's protein scaffold. *Science*. 1980: 207 : 21.
- Eyre D.R., Paz M.A., Gallop P.M. Cross-linking in collagen and elastin. *Annual Review of Biochemistry*. 1984: 5: 717.
- Eyre D.R. Collagen stability through covalent crosslinking. Collagen as food. *Advances in meat research*. Eds Reinhold Company New York. 1987 : 4.
- Fujimoto D., Akiba K., Nakamura N. Isolation and characterization of a fluorescent material in bovine Achille tendon collagen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1977: 76: 1124.
- Horgan D.J. The estimation of the age of the cattle by the measurement of thermal stability of tendon collagen. *Meat Science*. 1991: 29: 243.
- Kuypers R., Tyler M., Kurth L.B., Horgan D.J. The molecular location of the Ehrlich chromogen and pyridinoline cross-links in bovine perimysial collagen. *Meat Science*. 1994: 37: 67.
- Last J.A., Armstrong L.G., Reiser K.M. Biosynthesis of collagen crosslinks. *International Journal of Biochemistry*. 1990: 22: 559.
- Light N. The role of collagen in determining the texture of meat. *Advances in meat research*. Eds. AVI, New York. 1987: 4: 87.
- Monin G., Sellier P., Bonneau M. Trente ans d'évaluation de la notion de qualité de la carcasse et de la viande de porc. *Journées de la Recherche Porcine en France*. 1998: 30: 13.
- Reiser K., McCormick R.J., Rucker R.B. Enzymatic and non enzymatic cross-linking of collagen and elastin. 1992. *The Faseb Journal*. 1992: 6: 2439.
- Ricard-Blum S., Ville G. Collagen cross-linking (minireview). *International Journal of Biochemistry*. 1989: 21: 1185.
- Tanzer M.L. Cross-linking of collagen. *Science*. 1973: 180: 561.
- Young O.A., Bragins T.J., Barker G.J. Pyridinoline in ovine intramuscular collagen. *Meat Science* 1994: 37: 297.