

ÉVOLUTION POST MORTEM DE LA STRUCTURE MYOFIBRILLAIRE, CHEZ DES PORCS NORMAUX ET CHEZ DES PORCS SENSIBLES À L'HALOTHANE

Marielle ESTRADÉ, E. ROCK, X. VIGNON

*Institut National de la Recherche Agronomique
Station de Recherches sur la Viande - 63122 Ceyrat.*

L'évolution ultrastructurale des fibres musculaires a été étudiée parallèlement à la délocalisation des ions calcium dans les viandes issues de porcs normaux et sensibles à l'halothane à différents temps post mortem. Le calcium intracellulaire visualisé par précipitation et observation au microscope électronique est fortement diminué à 8 jours post mortem dans les tissus musculaires des porcs non sensibles. De profondes altérations de la striation des myofibrilles sont observées à partir de 24 heures post mortem dans ces tissus. Ce phénomène est très atténué dans le cas des viandes d'animaux sensibles où les myofibrilles ne présentent pas de ruptures, même après une période de maturation de 8 jours post mortem. Cette différence est discutée en rapport avec l'altération de la tendreté des viandes PSE.

Post mortem modifications in myofibrillar structure of normal and halothane susceptible pigs.

Ultrastructural modifications in muscle fibers from normal and halothane susceptible pigs meat were studied in relation with the analysis of calcium localization at different post mortem time. The intracellular calcium ions were precipitated for electron microscope observations, and ultrastructural studies were performed by conventional electron microscopic technique. The striation pattern of normal meat myofibrils exhibits major modifications caused by numerous transversal fragmentation of myofibrils as soon as 24 h ageing time. This phenomena is much more discrete in meat from susceptible pigs even after an ageing time of 8 days post mortem. This difference in the maturation of pig meat is discussed in relation with the modified organoleptic characteristics of PSE meat

INTRODUCTION

L'installation de la rigidité cadavérique est liée à une chute de pH post mortem dans le muscle. L'évolution du pH post mortem est un facteur explicatif des variations dans les qualités technologiques des viandes de porc et contribue largement à l'élaboration de leurs qualités organoleptiques (MONIN, 1988). Les porcs sensibles à l'halothane présentent généralement une installation de la rigor mortis et une chute de pH extrêmement rapides par rapport à celles des porcs non sensible, ce qui provoque la production fréquente de viandes exsudatives (PSE). Les qualités organoleptiques de ces viandes sont altérées, leur tendreté est affectée sans que l'on connaisse vraiment les mécanismes de ces altérations (BUCHTER et ZEUTHEN, 1971, TOURAILLE et MONIN, 1982).

Un facteur intervenant dans la tendreté des viandes est la protéolyse myofibrillaire qui a lieu au cours de la maturation (OUALI, 1990). Cette protéolyse dépend notamment de systèmes protéolytiques activés par le calcium. Dans cette étude, nous avons analysé l'évolution morphologique post mortem des structures myofibrillaires dans trois muscles d'animaux sensibles à l'halothane en comparaison avec celle d'animaux normaux. En parallèle, la localisation des ions calcium dans les fibres de ces deux types de muscle a été observée afin d'évaluer l'intervention de ces ions dans la maturation des viandes jusqu'à 8 jours post mortem.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Les animaux

Trois porcs Piétrain x Large White sensibles à l'halothane et deux porcs Large White non sensibles ont été utilisés dans cette étude. Pour chaque animal, environ 200 g de muscle Long dorsal sont prélevés à l'abattoir immédiatement après la saignée. Les prélèvements sont gardés pendant 4 heures à température ambiante puis à 4°C jusqu'à 8 jours post mortem.

1.2. Mesure du pH post mortem

Les valeurs de pH sont obtenues par mesure directe dans le tissu musculaire. Le pH est mesuré toutes les quinze minutes à partir de la mort de l'animal pendant cinq heures, puis à 24 h post mortem.

1.3. Préparation des échantillons pour les études ultrastructurales

Des échantillons sont prélevés dans le muscle dès que possible après la saignée (10 à 15 min) puis à 4h, à 24h et à 8 jours post mortem. Les échantillons sont coupés en blocs d'environ 1 mm³ et fixés par immersion dans une solution de fixation. Deux solutions de fixation ont été utilisées selon l'observation finale désirée :

- Pour la localisation ultrastructurale du calcium : la solution de fixation est composée de pyroantimonate de potassium (Merck) à 5% dans de l'eau bidistillée et de tétraoxyde d'osmium (OsO₄) à 2% mélangés volume à volume. Cette solution est amenée à pH 7,2 par de l'acide acétique à 0,01N. La fixation dure 4 h à température ambiante.
- Pour l'étude morphologique des tissus, la fixation s'effectue dans une solution de glutaraldéhyde à 3% dans du

tampon cacodylate de sodium 0,15 M, pH 7,4, pendant 30 minutes à température ambiante puis 4 h à 4°C dans la même solution de fixation. Les échantillons subissent une deuxième fixation dans une solution de tétraoxyde d'osmium à 1% dans le tampon de fixation.

Les blocs fixés sont déshydratés dans des bains d'alcool de degré croissant et d'oxyde de propylène, puis enrobés et inclus dans une résine epoxy (TAAB).

Les coupes ultrafines de 70 à 80 nm d'épaisseur sont récupérées sur grille de cuivre. Pour l'étude morphologique, les coupes sont contrastées par une double coloration à l'acétate d'uranyle-citrate de plomb.

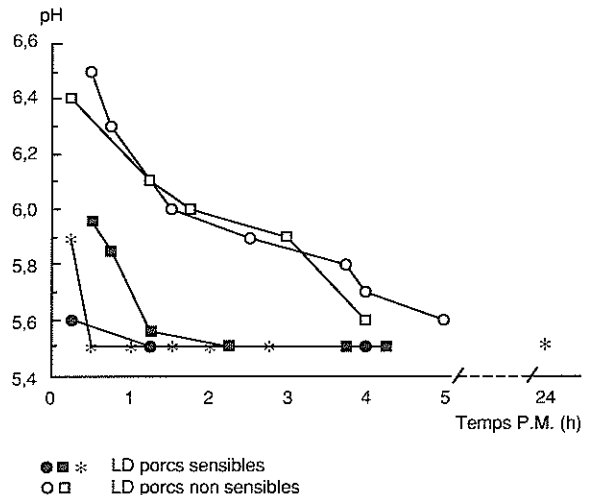
Les observations ont été réalisées sur un microscope Philips EM 400 sous une tension d'accélération de 80 KV.

2. RÉSULTATS

2.1. Évolution du pH post mortem

La figure 1 montre les cinétiques de chute de pH post mortem des cinq animaux utilisés. Chez les porcs positifs au test halothane, les valeurs de pH ultime d'environ 5,5 sont atteintes entre 30 et 75 min.

FIGURE 1
ÉVOLUTION DU pH POST MORTEM

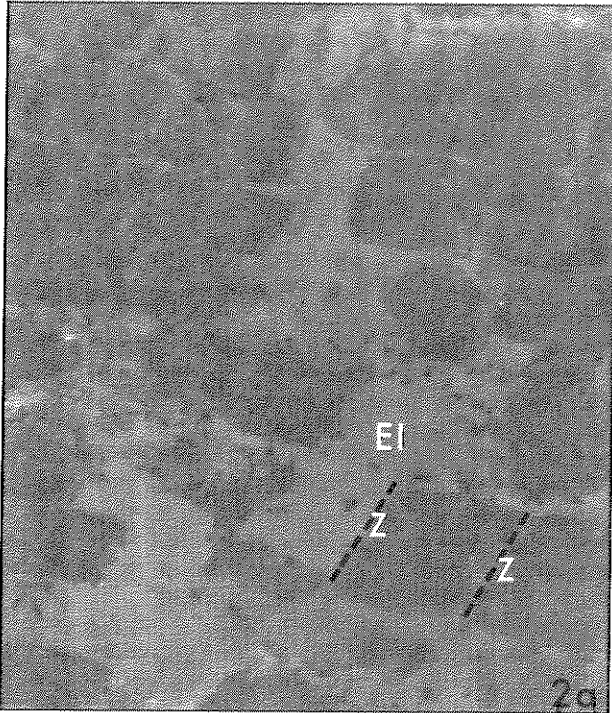


2.2. Localisation ultrastructurale du calcium intracellulaire

La technique de fixation au pyroantimonate permet l'observation de la localisation ultrastructurale des ions calcium par la formation de précipités denses aux électrons. Ces précipités sont limités aux myofibrilles et aux citernes terminales du reticulum sarcoplasmique, dans les coupes des muscles prélevés juste après l'abattage. Puis, avec l'acidification des tissus musculaires, ces précipités s'intensifient dans le compartiment sarcoplasmique des cellules.

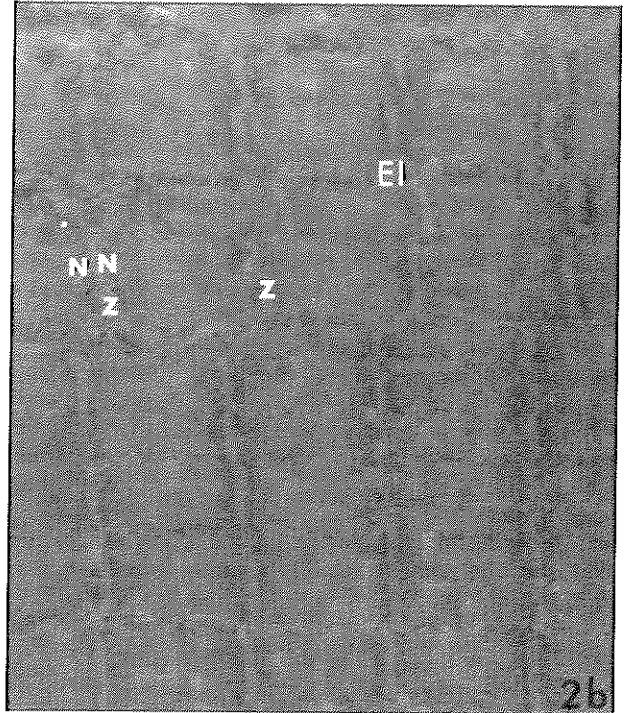
Après 8 jours à 4°C, on note que les muscles des porcs non sensibles présentent des ruptures myofibrillaires au niveau des lignes N. Le tissu est très désorganisé et présente de larges espaces entre les myofibrilles. Dans ces cellules, les précipités de calcium sont très atténués sur les myofibrilles et pratiquement absents dans le compartiment sarcoplasmique

FIGURE 2a
COUPE DE LONG DORSAL DE PORC NORMAL
À 8 JOURS POST MORTEM, FIXÉ AU PYROANTIMONATE
DE POTASSIUM.



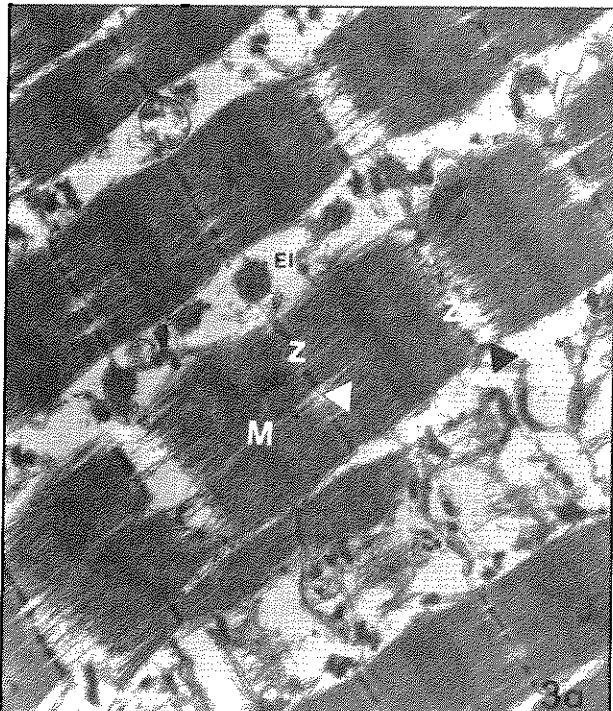
Les précipités denses aux électrons correspondent aux ions calcium. Les précipités myofibrillaires sont peu marqués. Les myofibrilles sont rompues au niveau des stries Z (Z), laissant de larges espaces (EI) dépourvus de précipités. (x 13000)

FIGURE 2b
COUPE DE LONG DORSAL DE PORC SENSIBLE
À L'HALOTHANE, À 8 JOURS POST MORTEM.



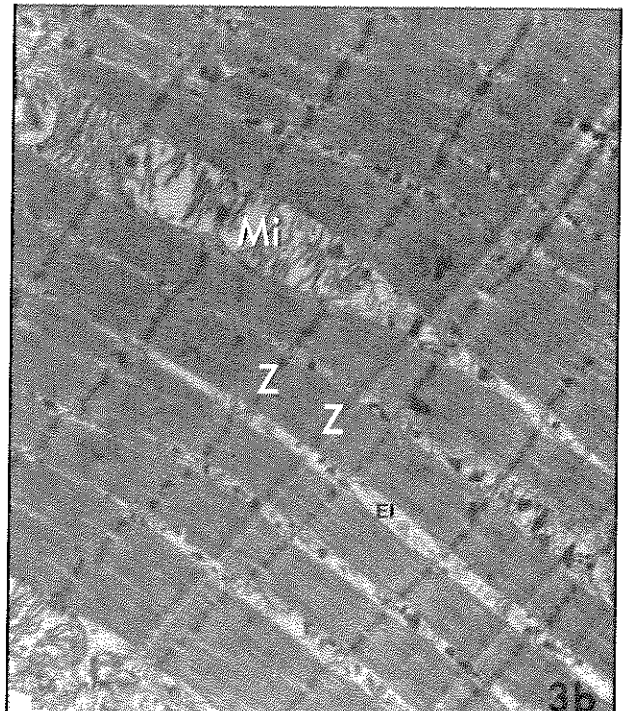
Les précipités sont toujours présents au niveau des myofibrilles, principalement de part et d'autre des stries Z (Z). Les espaces intermyofibrillaires sont également remplis de précipités de calcium. Les myofibrilles ne présentent pas de ruptures transversales. (x 13000)

FIGURE 3a
COUPE DE LONG DORSAL DE PORC NORMAL À 24 H
POST MORTEM FIXÉ AU GLUTARALDEHYDE ET COLORÉES
À L'ACÉTATE D'URANYLE-CITRATE DE PLOMB.



Les myofibrilles présentent des ruptures transversales au niveau des bandes I. On note un affaiblissement et des interruptions des stries Z (◀)(x 13000)

FIGURE 3b
COUPE DE MUSCLE DE PORC SENSIBLE
À L'HALOTHANE À 8 JOURS POST MORTEM.



On note un affaiblissement des stries Z mais le muscle présente toujours une bonne organisation myofibrillaire, il n'apparaît pas de ruptures. (x 13000)

(Fig. 2a). Les muscles des porcs sensibles présentent des structures myofibrillaires beaucoup moins désorganisées. Les espaces intermyofibrillaires sont encore pourvus de précipités denses aux électrons. Les myofibrilles comportent encore une striation régulière (lignes N) et ne présentent pas de ruptures apparentes (Fig. 2b).

2.3. Évolution de la structure myofibrillaire dans les viandes

Après 8 jours à 4°C, les muscles des animaux non sensibles présentent une structure myofibrillaire désorganisée, comme cela a été observé avec la localisation du calcium. La striation des myofibrilles est totalement irrégulière du fait de nombreuses ruptures transversales. Ces ruptures apparaissent toujours dans la région mitoyenne des stries Z, au niveau des lignes N. Cette dégradation myofibrillaire apparaît dès 24 h post mortem dans ces muscles (Fig. 3a).

Dans les muscles des animaux sensibles, la désorganisation des structures est beaucoup moins marquée. Les modifications essentielles sont un affaiblissement des stries Z dans lesquelles on observe quelques interruptions. Même au stade de 8 jours post mortem les myofibrilles ne montrent pas de cassures comparables à ce qui est observé dans les viandes des porcs non sensibles (Fig. 3b).

3. DISCUSSION

La maturation des viandes est le résultat d'un processus enzymatique qui fait intervenir des enzymes protéolytiques

endogènes (Pour une revue voir OUALI, 1990). Au cours de la transformation du muscle en viande, ce processus intervient dans les modifications des structures myofibrillaires. Morphologiquement, cela se traduit par :

- une apparence de plus en plus diffuse des stries Z et la disparition de leur alignement transversal (DAVEY, 1969 ; DUTSON, 1974 ; ABOIT, 1971),
- une fragmentation transversale des myofibrilles dans les régions contigües aux stries Z, dans les bandes I (GANN et MERKEL, 1978 ; PENNY, 1980).

Ces transformations imputables à l'action post mortem d'enzymes lysosomales ou de protéinases calcium-dépendantes sont les manifestations du processus d'attendrissement de la viande (OUALI, 1990). Ces phénomènes sont observables dans les viandes à cinétique de chute de pH normale de cette étude, parfois dès 24 h post mortem. Ils semblent par contre fortement atténués dans les viandes des animaux sensibles à l'halothane. En particulier, même après un temps de conditionnement de 8 jours, il n'y a pratiquement pas de fragmentation des myofibrilles au niveau des bandes I. Dans la mesure où l'on attribue l'augmentation de la tendreté observée pendant la maturation de la viande à l'affaiblissement des structures myofibrillaires, le maintien de l'intégrité de ces structures chez les porcs sensibles à l'halothane fournit une explication à la dureté des viandes des porcs sensibles observée par TOURAILLE et MONIN (1982). De même, sachant que les porcs sensibles à l'halothane donnent généralement des viandes PSE, cela expliquerait pourquoi la tendreté des viandes PSE n'augmente pas pendant la conservation à l'état réfrigérée, comme l'ont observé BUCHTER et ZEUTHEN (1971).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABOIT M.T., PEARSON A.M., PRICE J.F., HOOPER G.R., 1977, *J. Food Sci.*, 42, 5, 1185-1188.
- BUCHTER L., ZEUTHEN P., 1971, *Proc. 2nd int. Symp. Condition Meat Quality Pigs*, Zeist. Pudoc, Wageningen.
- DAVEY C., GILBERT K.V., 1969, *J. Food Sci.*, 34, 69-74.
- DUTSON T.R., PEARSON A.M., MERKEL R.A., 1974, *J. Food Sci.*, 39, 32-37.
- GANN G.L., MERKEL R.A., 1978, *Meat Sci.*, 2, 129.
- MONIN G., 1988, *Journées rech. porcine en France*, 20, 201-214.
- OLLIVIER L., SELLIER P., MONIN G., 1978, *ANN. Génét. Anim.*, 10, 191-208.
- OUALI A., 1990, *J. Muscle Food*, 1, 129-165.
- PENNY I. F., 1980, *In Developments in Meat Science* (Edited by LAWRIE, R.A.), 1, 115-143. London : Elsevier Applied Science.
- TOURAILLE C., MONIN G., 1982, *Journées Rech. Porcine en France*, 14, 33-36